ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE : 1984 THÈSE : 55

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'AVORTEMENT CHLAMYDIEN CHEZ LA CHÈVRE

INFECTION ABORTIVE EXPÉRIMENTALE

THÈSE

pour le Doctorat Vétérinaire
(Diplôme d'État)
Présentée et soutenue publiquement en 1984
devant l'Université Paul Sabatier de Toulouse

par

Charles, Jean, Denis BOULLET
Né le 29 Octobre 1958 à BRUNOY (Essonne)

MEMBRES DU JURY

Président : Monsieur ARMENGAUD
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs : Monsieur FERNEY
Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Monsieur BEZILLE
Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE : 1984 THÈSE : 55

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'AVORTEMENT CHLAMYDIEN CHEZ LA CHÈVRE INFECTION ABORTIVE EXPÉRIMENTALE

THÈSE

pour le Doctorat Vétérinaire
(Diplôme d'État)
Présentée et soutenue publiquement en 1984
devant l'Université Paul Sabatier de Toulouse

par

Charles, Jean, Denis BOULLET
Né le 29 Octobre 1958 à BRUNOY (Essonne)

MEMBRES DU JURY

Président : Monsieur ARMENGAUD
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs : Monsieur FERNEY
Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Monsieur BEZILLE
Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	M. LAUTIE
Directeur honoraire	M. FLORIO
Professeurs honoraires	MM. BRIZARD SAURAT GODFRAIN

PERSONNEL ENSEIGNANT

CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Professeur titulaire	Mme BURGAT-SACAZE
Maître-Assistant	M. PETIT

Pharmacie et Toxicologie

CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Professeur titulaire	MM. RICO
Professeur sans chaire	BRAUN
Maître-Assistant Agrégé	BENARD

Physique Biologique et Médicale
Chimie Biologique et Médicale
Informatique Biologique et Médicale

CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Professeur titulaire	MM. PAVAUX
Maître-Assistant Agrégé	LIGNEREUX
Maître-Assistant Agrégé	SAUTET

Organogénèse - Tératologie
Anatomie Générale - Anatomie Appliquée

CHAIRE DE PHYSIOLOGIE, PHARMACODYNAMIE ET THERAPEUTIQUE

Professeur titulaire	MM. RUCKEBUSCH
Professeur sans chaire	FARGEAS
Maître-Assistant Agrégé	TOUTAIN

Physiologie - Pharmacodynamie - Thérapeutique

CHAIRE D'HISTOLOGIE - ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Professeur titulaire	MM. VAN HAVERBEKE
Professeur sans chaire	CABANIE
Maître-Assistant Agrégé	MAGNOL

Histologie - Embryologie
Anatomie Pathologique - Clinique

CHAIRE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

Professeur titulaire	MM. LABIE
Maître de Conférences	EECKHOUTTE
Maître-Assistant Agrégé	Mme BENARD

Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie des denrées alimentaires d'origine animale - Clinique

CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

Professeur titulaire	MM. DORCHIES
Maître de Conférences	FRANC
Maître-Assistant Agrégé	DUCOS DE LAHITTE

Zoologie appliquée - Ecologie - Parasitologie externe
Dermatologie - Parasitologie interne - Clinique

CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MEDICALE DES EQUIDES ET CARNIVORES ET DE LEGISLATION

Professeur titulaire	MM. LESCURE
Professeur sans chaire	GUELFI
Maître-Assistant Agrégé	REGNIER

Sémiologie et Pathologie Médicale
des Equidés et Carnivores
Législation Vétérinaire et Déontologie - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire	MM. TOURNUT
Maître de Conférences	BEZILLE
Maître-Assistant	JOUGLAR
Maître-Assistant	SCHELCHER

Sémiologie et Pathologie Médicale du Bétail
et des Animaux de Basse-Cour
Clinique - Consultation itinérante

CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire	MM. CAZIEUX
Maître de Conférences	GENEVOIS
Maître-Assistant Agrégé	AUTEFAGE
Maître-Assistant	FAYOLLE

Propédeutique et Sémiologie Chirurgicale - Radiologie
Technique chirurgicale - Anesthésiologie
Pathologie Chirurgicale - Traumatologie
Podologie orthopédique - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Professeur titulaire	MM. FERNEY
Professeur sans chaire	ROYAL
Maître-Assistant	BERTHELOT

Pathologie de l'appareil génital et de la mamelle
Sémiologie et Propédeutique
Pathologie de la Reproduction - Obstétrique et
Pathologie du nouveau-né - Clinique
Consultation itinérante

CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES - ZOONOSES - LEGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire	MM. CHANTAL
Maître-Assistant	PICAVET
Maître-Assistant	LACHERETZ

Epidémiologie - Maladies Contagieuses - Zoonoses
Législation Sanitaire - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE GENERALE - MICROBIOLOGIE - IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire	MM. LAUTIE
Maître de Conférences	EUZEBY
Maître-Assistant	MILON

Microbiologie - Immunologie - Pathologie Générale

CHAIRE D'ELEVAGE ET ECONOMIE

Professeur titulaire	MM. QUEINNEC
Professeur sans chaire	DARRE
Maître-Assistant	Mme QUEINNEC

Ethnologie - Génétique Animale - Extérieur
Zootechnie et Economie Générales
Ethologie appliquée, Sciences, Techniques,
Economie de l'Elevage et des Productions Animales
Insémination artificielle - Organisation de l'Elevage

CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur titulaire	MM. FALIU
Professeur sans chaire	GRIESS
Maître-Assistant	ENJALBERT

Botanique appliquée et Bromatologie
Agronomie - Alimentation

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (délibération de la Faculté en date du 10 Mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 Juin 1924).

A MES PARENTS,

Qu'ils trouvent ici le cordial témoignage de ma reconnaissance.

A MA FEMME,

Et au bébé qu'elle porte.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur ARMENGAUD
de l'Université Paul SABATIER de TOULOUSE.

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la Présidence
de notre Jury de thèse.

A notre Jury de Thèse

Monsieur le Professeur FERNEY
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Qui nous a fait l'honneur de nous confier ce travail et nous a permis de le mener à bien.

Monsieur le Professeur BEZILLE
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Qui a bien voulu prendre part à notre thèse.

Nous tenons vivement à remercier les chercheurs de l'I.N.R.A. de TOURS-NOUZILLY et tout particulièrement :

- *Monsieur PLOMMET pour le cordial accueil qu'il nous a réservé au sein de la Station de Pathologie de la Reproduction.*

- *Madame RODOLAKIS pour sa précieuse collaboration et l'intérêt chaleureux porté à notre travail.*

- *Monsieur SOURIAU pour ses conseils avertis et son aide efficace.*

P L A N

INTRODUCTION 1

C H A P I T R E I -

GÉNÉRALITÉS

I - DEFINITION 3

II - HISTORIQUE 3

III- UBIQUITE DE CHLAMYDIA PSITTACI 4

IV - CLASSIFICATION 5

V - SYNONYMIE 8

VI - IMPORTANCE 10

61 - DANS LE MONDE 10

62 - EN FRANCE 11

C H A P I T R E II -

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE L'INFECTION CHLAMYDIENNE AU NIVEAU DE LA CELLULE

I - CYCLE DES CHLAMYDIA 15

II - BIOLOGIE DES CORPS ELEMENTAIRES 16

21 - STRUCTURE 16

22 - POUVOIR INFECTIEUX 16

22.1 - L'endocytose induite par la Chlamydia 17

a/. Attachement du corps élémentaire à la membrane de la cellule hôte 17

b/. Ingestion des Chlamydia 18

b_1/. facteurs tenant aux Chlamydia 18

b_2/. facteurs tenant à la cellule-hôte 19

22.2 - L'inhibition de la formation des phagolysosomes 19

23 - CYTOXICITE 20

24 - TRANSFORMATION EN CORPS RETICULES 21

III- BIOLOGIE DES CORPS RETICULES 21

31 - STRUCTURE 21

32 - ABSENCE DE POUVOIR INFECTIEUX ET DE TOXICITE 22

33 - METABOLISME DES CORPS RETICULES 22

33.1 - Capacités de synthèse des corps réticulés 22

a/. Synthèse des composés glucidiques et énergétiques 22
b/. Synthèse des acides nucléiques 23

b_1/. synthèse de l'ARN 24
b_2/. synthèse de l'ADN 24

c/. Synthèse des protéines 25
d/. Synthèse du glycogène 26
e/. Synthèse de l'acide folique 26

33.2 - Phénomènes entraînant la mort de la cellule hôte 26

a/. Blocage de la synthèse de l'ADN cellulaire 26
b/. Envahissement par la vacuole chlamydienne 28
c/. La lyse membranaire 28

34 - TRANSFORMATION EN CORPS ELEMENTAIRES 29

CHAPITRE III -

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE L'AVORTEMENT CHLAMYDIEN CHEZ LA CHÈVRE

I - EPIDEMIOLOGIE 31

II - ETIOLOGIE 42

21 - SOURCES VIRULENTES 42

22 - RESISTANCE DU GERME 43

22.1 - Dans les conditions naturelles 43

22.2 - Au laboratoire 43

23 - RECEPTIVITE ET SENSIBILITE 44

23.1 - Milieu et conditions d'élevage 44

23.2 - Espèce hôte et spécificité des Chlamydia 44

a/. Dans les conditions naturelles 45

a_1/. tropisme d'espèce 45
a_2/. tropisme d'organe 46

b/. Expérimentalement 46

b_1/. in vivo 46
b_2/. in vitro 48

23.3 - Sexe 50

23.4 - Age 50

23.5 - Stade de gestation 50

23.6 - Affections intercurrentes 51

a/. D'origines diverses 51
B/. D'origine chlamydienne 51

24 - MODES DE CONTAGION ET VOIES DE PENETRATION 56

III - PATHOGENIE 58

31 - PASSAGE DE LA BARRIERE INTESTINALE 58

32 - CHLAMYDEMIES ET COLONISATION DE L'UTERUS 59

33 - LESIONS PLACENTAIRES ET FOETALES 62

33.1 - Perturbation des échanges 66

33.2 - Production hormonale modifiée 66

33.3 - Rejet immunologique 67

IV - DIAGNOSTIC 69

41 - RAPPELS SUR L'IMMUNITE 69

41.1 - Définition 69

41.2 - Classification 69

41.3 - Mécanisme d'action 70

a/. L'immunité à médiation humorale 70
b/. L'immunité à médiation cellulaire 71

42 - APPLICATIONS AU DIAGNOSTIC EXPERIMENTAL INDIRECT 72

42.1 - Mise en évidence de la réaction humorale 72

a/. la fixation du complément 73
b/. l'immunofluorescence indirecte 74

42.2 - Mise en évidence de la réaction cellulaire 76

a:. l'intradermoréaction 76
b/. le test de transformation lymphoblastique 77
c/. le M I F test 77

43 - RECOURS AU DIAGNOSTIC EXPERIMENTAL DIRECT 78

43.1 - Mise en évidence du germe vivant 80

a/. culture sur animal de laboratoire 81
b/. culture in ovo 82
c/. culture sur cellules 82

c_1/. technique des plages de lyse 82
c_2/. fluorescence à l'acridine orange 83

43.2 - Mise en évidence du germe mort 84

a/. Technique ELISA 84
b/. Colorations 85

V - TRAITEMENT 86

VI - PROPHYLAXIE 88

61 - PROPHYLAXIE SANITAIRE 88

61.1 - Mesures défensives 88

61.2 - Mesures offensives 93

62 - PROPHYLAXIE MEDICALE 94

62.1 - Origine du vaccin 95

a/. Nature des Chlamydia 95

a_1/. origine ovine 95
a_2/. autovaccin 95
a_3/. origine caprine 95
a_4/. parenté immunologique de Coxiella Burnetti 96

b/. Milieu de culture utilisé pour la multiplication 96

62.2 - Préparation du vaccin 96

a/. Etude d'un vaccin inactivé 97
b/. Etude d'un vaccin atténué 100

63.3 - Contrôle du vaccin 102

62.4 - Date d'injection du vaccin 103

CHAPITRE IV -

ETUDE EXPÉRIMENTALE DE L'AVORTEMENT CHLAMYDIEN CHEZ LA CHÈVRE.

I --MATERIELS ET METHODES 105

11 - SOUCHE 105

12 - CULTURE ET TITRAGE DES CHLAMYDIA PAR LA TECHNIQUE DES PLAGES DE LYSE 105

12.1 - Principe 105

12.2 - Techniques 106

a/. Entretien d'une lignée cellulaire en monocouche 106
b/. Préparation des cupules utilisées pour l'inoculation 106
c/. Inoculation et culture des Chlamydia d'origines vaginale ou fécale 109
d/. Mise en évidence des Chlamydia et numération 111

13 - ANIMAUX 112

14 - DIAGNOSTIC DE GESTATION PAR ULTRASONS ET EFFET DOPPLER 114

15 - INOCULATION 116

16 - RELEVE THERMIQUE 116

17 - EXAMEN CLINIQUE 116

18 - SUIVI SEROLOGIQUE 116

18.1 - Principe de la réaction de fixation du complément 117

18.2 - Pouvoir anti-complémentaire 117

a/. le sérum 118
b/. l'antigène thermostable de groupe 118

18.3 - Titrage du complément 118

a/. Principe 118
b/. Réactifs et matériels 118
c/. Techniques 119

18.4 - Matériels et réactifs de la réaction de fixation du complément proprement dite 120

18.5 - Technique de la réaction de fixation du complément 121

a/. Préliminaire 121
b/. Décomplémentation des sérums 121
c/. Fixation du complément 121
d/. Addition du système hémolytique après 18 h à 4°C. 122
e/. Lecture 122

19 - ETUDE DES FOETUS ET DES PLACENTAS 123

19.1 - Etude macroscopique 123

a/. Les foetus 123
b/. Les placentas 124

19.2 - Etude microscopique 124

a/. Réalisation de calques 124
b/. Coloration des lames 124
c/. Réactifs et technique 124
d/. Lecture 125

110 - RECHERCHE DES CHLAMYDIA DANS LE CONDUIT VAGINAL 125

110.1 - Prélèvements 126

110.2 - Obtention de l'inoculation à partir de l'écouvillon vaginal 126

111 - RECHERCHE DES CHLAMYDIA DANS LES EXCREMENTS 126

111.1 - Prélèvements 126

111.2 - Obtention de l'inoculum à partir des fécès 127

II - RESULTATS ET DISCUSSION 129

21 - DUREE DE GESTATION 129

22 - DUREE DE RETENTION DES FOETUS MORTS 130

23 - REACTION FEBRILE A L'INOCULATION 132

24 - SYMPTOMES 134

25 - SEROLOGIE 138

26 - FOETUS 145

27 - PLACENTAS 148

28 - EXCRETION VAGINALE DE CHLAMYDIA VIVANTES 150

29 - ABSENCE DE CHLAMYDIA VIVANTES DANS LES FECES 155

CONCLUSION 159

BIBLIOGRAPHIE

==========

- I N T R O D U C T I O N -

La FRANCE est le seul pays européen, avec l'Espagne qui voit son cheptel caprin augmenter d'année en année, ce depuis 1975.

Il atteint environ un million trois cent mille têtes mais est néanmoins très minoritaire comparé à l'effectif ovin qui est d'environ treize millions.

Une telle supériorité numérique, donc économique, en faveur des ovins explique pourquoi la brebis a monopolisé l'attention des ingénieurs et des chercheurs, aux dépends de la chèvre.

La chlamydiose abortive illustre bien, à plusieurs niveaux, cette inégalité :

- *L'étude sur le terrain :*

Le premier isolement en FRANCE de Chlamydia psittaci, germe responsable de la chlamydiose, date chez la brebis de 1956 (37) alors que chez la chèvre, il n'est réalisé qu'en 1971 (26).

- *L'étude expérimentale :*

L'avortement provoqué par inoculation de Chlamydia psittaci a été pratiqué chez la brebis dès 1963 (90).

Reproduire ainsi à souhait une maladie constitue l'une des premières étapes de son étude expérimentale car elle permet de l'étudier d'une façon suivie et scientifique, mais aussi de tester de nouveaux vaccins ou des traitements spécifiques.

Or une telle inoculation infectieuse n'a jusqu'alors jamais été pratiquée chez la chèvre, nous privant ainsi presque totalement de données expérimentales concernant les caprins.

Certes, les résultats obtenus sur les ovins, profitent également à l'espèce caprine, surtout sur le plan pathogénique ou thérapeutique. Mais des distinctions épidémiologiques, étiologiques et prophylactiques apparaissent de plus en plus.

Madame RODOLAKIS, chargée de recherches à l'INRA de TOURS, a donc décidé de s'intéresser aux problèmes spécifiques de la chèvre et de réaliser la première chlamydiose expérimentale caprine.
Le compte-rendu de cette expérience constituera l'ultime chapitre de notre thèse.

Nous aurons préalablement abordé :

- l'infection chlamydienne au niveau de la cellule,

- la chlamydiose abortive de la chèvre,

avec néanmoins quelques insertions obligatoires concernant les brebis, puisqu'il nous faut regretter la quasi absence de publications sur la chlamydiose expérimentale caprine.

N.B. - Pour information complémentaire, une publication sur l'expérimentation de Madame RODOLAKIS paraîtra en 1984 dans l'American Journal of Veterinary Research sous le titre "Chlamydia psittaci experimental abortive infection in goats".

CHAPITRE I

GENERALITES

I - DEFINITION -

La chlamydiose caprine est une maladie infectieuse, contagieuse et inoculable, due à Chlamydia psittaci. Elle provoque principalement des vagues d'avortement chez les chèvres en fin de gestation.

Mais l'infection chlamydienne reste aussi souvent à l'état latent, sous la forme d'une chlamydiose intestinale.

Des pneumonies chlamydiennes sont également décrites.

Outre ces trois pathologies distinctes, d'autres affections caprines ont été attribuées aux Chlamydia, telles des kératites et des arthrites lors d'avortements, aux USA en 1968 par Mc CAULEY (53), mais aussi en FRANCE par BLONDEAU en 1979 (5).

II - HISTORIQUE -

Les trois affections les plus importantes, c'est-à-dire l'avortement, la chlamydiose latente intestinale et la pneumonie, sont évidemment celles qui ont permis de prouver l'intervention des Chlamydia dans la pathologie caprine, mais curieusement dans l'ordre chronologique inverse de leur importance actuelle. Ainsi, les Chlamydia ont été mises en évidence, chez les caprins :

- dans les lésions pulmonaires d'animaux atteints de pneumonie, en 1953 au JAPON, par OMORI (59).

- dans les fécès de boucs, apparemment sains, en 1957, au JAPON, de nouveau par OMORI (60) par culture in vivo sur cobaye.

- dans le mucus adhérent à un foetus avorté en 1959, en ALLEMAGNE, par STAUB (88) par coloration des corps élémentaires sur lame. Les Chlamydia n'ont pu être isolées par culture, mais les chèvres avortées présentaient des anticorps antichlamydia.

Dans les autres affections caprines, les Chlamydia n'ont pu être isolées, mais leur intervention est très probable car démontrée en pareils cas chez les ovins. Ces derniers, en plus des pathologies précèdemment décrites, présentent des orchites et/ou des épididymites chlamydiennes; chez les bovins, les Chlamydia ont aussi provoqué des encéphalomyélites sporadiques dès 1942 aux Etats-Unis (7i).

Toutes ces pathologies, si elles sont démontrées chez les caprins, doivent être prises en considération. En effet, les Chlamydia ont été isolées chez des chèvres, la première fois, lors de pneumonie. Cette maladie passée peut redevenir une maladie d'avenir, du fait de l'adaptabilité extrême des Chlamydia et de leur polyvalence pathogénique très développée.

III - UBIQUITE DE CHLAMYDIA PSITTACI -

Chlamydia psittaci infecte :

* Une foule de mammifères (95), entraînant la chlamydiose chez nos animaux :

- d'élevage : bovins, ovins, caprins, porcins, lapin.

- de compagnie : chien, chat.

- de laboratoire : cobaye, souris, rat ...

* Mais aussi les oiseaux :

- perroquets atteints de psittacose, entérotyphus mortel,

- poules, canards, dindons, pigeons chez lesquels elle provoque l'ornithose atteinte digestive dans sa forme grave surtout chez le dindon ou maladie inapparente le plus fréquemment entraînant parfois un mauvais état général accompagné de conjonctivite bilatérale .

* Et enfin l'Homme, apparemment peu sensible à la chlamydiose des Mammifères, mais qui peut être contaminé par la souche aviaire. Ainsi :

- la psittacose, zoonose majeure, se présente sous forme d'un pneumotyphus, souvent mortel avant l'avènement des antibiotiques.

- l'ornithose peut entrainer une Pneumonie Atypique Primitive, moins grave.

A noter que l'Homme est surtout atteint par une Chlamydia qui lui est propre, Chlamydia trachomatis.

IV - CLASSIFICATION -

Mais que sont donc ces Chlamydia à l'origine de tant d'affections chez tant d'espèces animales ?

La présence de deux acides nucléiques et une reproduction par division binaire les classent certes parmi les bactéries.

Mais la particularité d'être parasites intracellulaires obligatoires (car elles ne peuvent produire leur propre énergie) ont placé les Chlamydia dans un groupe "à part" proche des

virus, que l'on pourrait appeler les "Infrabactéries" (64) et qui se distingue du reste du monde bactérien,

- soit par une très petite taille associée à un parasitisme intra cellulaire strict,

- soit par l'absence de paroi.

Ce groupe rassemble les Rickettsies, les Chlamydia et les Mycoplasmes.

Bien sûr, des différences existent entre ces 3 types de bactéries (voir tableau) et une classification scientifique a pu être établie. En fait, chacun est représenté par un Ordre

- l'Ordre des Rickettsiales
- l'Ordre des Chlamydiales
- l'Ordre des Mycoplasmatales.

Un ordre a été spécialement créé pour les Chlamydia du fait du caractère unique de leur cycle de reproduction; celui-ci comprend en effet successivement deux types de cellules distinctes :

- les corps élémentaires, infectants, possédant une paroi rigide, qui se différencient en corps réticulés.

- les corps réticulés, non ~~infectieux~~, sans paroi rigide, qui se divisent par fission binaire.

L'Ordre des Chlamydiales ne contient donc qu'une seule famille, celle des Chlamydiaceae, elle-même renfermant un seul genre, Chlamydia. Deux espèces existent :

- Chlamydia psittaci
- Chlamydia trachomatis

PROPRIETES COMPAREES DES CHLAMYDIA, DES BACTERIES, DES RICKETT SIES, DES MYOCOPLASMES, DES VIRUS (DAVIS et al., 1973)

CARACTERISTIQUES	CHLAMYDIA	BACTERIES	RICKETT SIES	MYCOPLASME	VIRUS
Parasite externe à la cellule hôte	0	+	0 sauf R.Quintana	+	0
Indépendance pour la synthèse protéique	+	+	+	+	0
Production d'énergie métabolique	0	+	+	+	0
Enveloppe cellulaire rigide	0 corps initial + corps élémentaire.	+	+	0	variable
Sensibilité aux antibiotiques	+	+	+	+	0
Mode de reproduction	Fission	Fission	Fission	Fission	Synthèse de sous-unité= virion
Acide nucléique	ADN+ARN	ADN+ARN	ADN+ARN	ADN+ARN	ADN+ARN

Chlamydia trachomatis, pathogène pour l'Homme, est responsable, elle aussi, de plusieurs maladies, principalement oculaires et génitales :

- le trachome endémique, infection grave de l'oeil qui frappe encore actuellement 500 millions d'individus dans les pays chauds deshérités, particulièrement les enfants;

- les infections oculogénitales, urétrites chez l'homme, cervicités et salpingites chez la femme qui peuvent contaminer le nouveau-né à la naissance, entraînant une conjonctivite à inclusions, et plus rarement un syndrôme pneumonique.

  Des conjonctivites sont aussi décrite chez l'adulte.

  Enfin, le syndrôme de REITER-FISSENGER-LEROY associant conjonctivite, urétrite et atteinte articulaire aurait pour origine une infection par Chlamydia trachomatis dans 30 à 50 % des cas (44).

- la lymphogranulomatose vénérienne (LGV) ou Maladie de NICOLAS-FAVRE, maladie tropicale caractérisée par des lésions génitales et des adénopathies suppurées.

- la lymphoréticulose bénigne d'inoculation ou "Maladie des griffes du chat", transmise, comme son nom l'indique, par la morsure ou les griffes du chat (uniquement vecteur) mais aussi d'autres espèces (furet, rat). Elle se traduit par une adénopathie satellite parfois précédée d'une lésion primaire.

V - SYNONYMIE

Toutes ces maladies multiples, tant animales qu'humaines, ainsi que les nombreux chercheurs associés à la chlamydiose, ont été au fil des années, à l'origine des nombreuses dénominations qui précédèrent le terme actuel de Chlamydia :

- Chlamydozoon fut le premier nom donné à des corps "élémentaires" décrits par HALBERSTADTER et VON PROWAZEK en

1907, à l'intérieur d'inclusions de cellules conjonctivales trachomateuses, et qui paraissaient être entourées d'un "petit manteau"; or une chlamyde, nom d'origine grecque, qualifie en français un manteau court et fendu, agrafé à l'épaule et porté dans l'Antiquité (Petit ROBERT).

- Bedsonia en souvenir de BEDSON qui fit une étude approfondie de la psittacose lors de la pandémie de 1930.

- Miyagawanella car MIYAGAWA s'intéressa à la lymphogranulomatose vénérienne.

- Néorickettsie est proposé par GIROUD, spécialiste de la fièvre Q, une des rickettisioses les plus répandues dans le monde et en FRANCE, où elle atteint de nombreuses espèces, notamment l'Homme (bronchopneumonie) et les Ruminants (avortements) comme la chlamydiose).

Elle est due à Coxiella Burnetti, espèce de la famille des Rickettsiaceae où elle est associée à Rickettsia, agent elle de typhus chez l'homme et le rat, de la fièvre boutonneuse chez le chien, et de la fièvre pourprée chez les Rongeurs.

Bref, cette fièvre Q , transmise entre animaux par les tiques mais aussi directement, peut également contaminer l'Homme, suite à des inhalations de poussières virulentes ou des manipulations incontrôlées, et constitue une zoonose majeure.

- le terme "d'avortement à virus" est couramment employé dans les années 1950 - 1960.

- Rakeia est utilisé ensuite en pathologie animale, dans les années 1960 - 1970, en l'honneur de RAKE.

- En pathologie humaine, des sigles sont souvent employés:

.PLV pour psittacose - lymphogranulomatose vénérienne.

.PLT pour psittacose - lymphogranulomatose- trachome.

.LGV pour lymphogranulomatose vénérienne.

.TRIC pour Trachoma - Inclusion - Conjunctivitis .

- Finalement, vers 1973, Chlamydia fut unanimement admis pour rappeler la première dénomination donnée en 1907, Chlamydozoon.

VI - IMPORTANCE -

61- DANS LE MONDE -

Pour apprécier l'importance de la chlamydiose abortive caprine dans le monde, sachez qu'elle a été chronologiquement décrite dans les pays suivants :

- ALLEMAGNE en 1959 (88)
- BULGARIE en 1966 (87)
- ESPAGNE en 1967 (4)
- U.S.A. en 1968 (53)
- FRANCE en 1971 (26)
- INDE en 1975 (43)
- TCHAD en 1979 (48)
- GRANDE BRETAGNE en 1983 (1)

Ces premières découvertes seront abordées dans le chapitre suivant lors de l'étude épidémiologique.

62 - EN FRANCE

L'importance et la distribution géographique de la chlamydiose caprine en FRANCE sont bien sûr fonction de celles du cheptel. Celui-ci est réparti, en forme de croissant, à l'Ouest au Nord et à l'Est du Massif Central; cet arc de cercle tend à l'heure actuelle à se refermer par le Sud. C'est le Nord Ouest du Massif Central qui est le plus peuplé; ainsi les Deux Sèvres et la Vienne limitrophe qui sont les départements français où l'on compte le plus de chèvres; mais le Sud Est est aussi bien représenté avec l'Ardèche, principalement. Viennent ensuite le Cher, la Drôme, l'Indre, l'Isère, la Saône et Loire et la Corse.

Dans ces différentes régions, la chlamydiose se partage la responsabilité des avortements infectieux caprins (et ovins également) avec la brucellose, la fièvre Q, la toxoplasmose principalement et plus rarement avec la salmonellose et la listériose. Mais l'incidence chlamydienne n'est pas égale partout :

*elle n'est pas mise en évidence dans les départements pilotes que sont les Deux-Sèvres et la Vienne (55). L'Indre, limitrophe de la Vienne est pourtant atteinte et la chlamydiose y semble même prépondérante.

*mais les régions qui, sans conteste, sont celles où le rôle abortif essentiel est tenu par les Chlamydia sont le Sud-Est et dans une moindre mesure le Sud, c'est-à-dire :

- la vallée du Rhône (Ardèche, Drôme) et les Alpes du Nord (Haute-Savoie, Isère), où la brucellose est quasi absente.

- les Alpes du Sud (Alpes Maritimes, Alpes de Haute Provence, Hautes Alpes), le Languedoc (Hérault), le midi Pyrénéen (Tarn, Tarn et Garonne) et en remontant

même la Dordogne, départements dans lesquels la brucellose caprine est encore constamment décelée.

Mais l'on constate que la brucellose diminuant, la chlamydiose progresse. Une telle donnée épidémiologique semble évidente mais doit quand même être pondérée par le fait qu'elle repose sur des résultats d'examens de laboratoire (absolument nécessaires dans le diagnostic des maladies abortives).

Or, ces analyses interfèrent d'elles-mêmes dans les résultats puisqu'elles varient :

- en quantité

*la brucellose étant une maladie légalement contagieuse, est recherchée en priorité et la mise en évidence de Brucella supprime en général toute recherche ultérieure de Chlamydia.

*parallèlement, le dépistage obligatoire de la brucellose a réduit fortement son incidence et l'absence de plus en plus fréquente de Brucella facilite à la fois l'expression clinique des autres germes, mais aussi leur recherche au laboratoire.

- en qualité

La difficulté d'isolement des Chlamydia, du fait de leur parasitisme intracellulaire, entrave en outre leur recherche.

Le diagnostic sérologique, beaucoup plus simple s'est répandu heureusement plus vite, mais n'est pas aussi fiable.

Bref, les résultats épidémiologiques sont ce qu'ils sont. Ils ont au moins le mérite d'exister, de donner des vues générales et surtout d'apprécier des évolutions, des comparaisons.

Dans l'absolu, ils ne peuvent être fidèles et nous n'accumulerons pas de données chiffrées; surtout en ce qui concerne les avortements caprins car ceux-ci sont encore trop rarement déclarés car pas assez pris en considération par des éleveurs réservés et individualistes.

L'attention des éleveurs semble quand même croître, au sujet de la chlamydiose du fait de l'importance qu'elle tend à prendre et des pertes économiques indéniables qu'elle entraîne.

Mais pour . . . . . les vétérinaires et les chercheurs, un problème majeur reste celui de la chlamydiose intestinale latente. En effet, une présence quasi constante et modérée d'anticorps antichlamydia fixant le complément, dans les troupeaux tant ovins que caprins, démontre l'importance de cette affection :

- au niveau du diagnostic de la chlamydiose abortive, elle perturbe les résultats sérologiques (ainsi ne sont considérés positifs en fixation du complément que les sérums présentant une hémolyse à des dilutions supérieures ou égales au 1/80)

- au niveau de l'épidémiologie, ces Chlamydia présentes dans le tube digestif de chèvres apparemment saines constituent un danger réel de dissémination.

Certains auteurs ajoutent même que ces Chlamydia "intestinales" peuvent devenir pathogènes et être à l'origine d'avortements.

Nous voyons que les domaines à étudier dans la chlamydiose abortive caprine sont légions; nous espérons que notre thèse pourra contribuer à en éclaircir quelques-uns et à intéresser d'autres personnes à cet effort de recherche nécessaire.

CHAPITRE II

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE L'INFECTION CHLAMYDIENNE AU NIVEAU DE LA CELLULE

I - CYCLE DES CHLAMYDIA -

Les Chlamydia ont un cycle intracellulaire qui leur est particulier et qui implique une modification de leur morphologie et de leur métabolisme dans le temps.

La forme infectieuse, de 0,3 micron environ, seule extracellulaire, est appelée corps élémentaire. Elle pénètre dans la cellule hôte et, vers la 8° heure, se réorganise à l'intérieur d'une vacuole en corps réticulé ou corps initial, d'une taille de 1 micron et plus.

Ce corps réticulé va se diviser par fission binaire, dès la 15° heures du cycle, et l'accumulation de nombreuses cellules filles dans la vacuole va donner au microscope un aspect en "sac de billes ".

De la 20° à la 30° heure, ces cellules filles non infectantes se transforment en corps élémentaires infectants. Vers la 40° heure , la vacuole intracytoplasmique envahit toute la cellule, provoque la mort puis la lyse de celle-ci et libére dans le milieu extracellulaire, de nouvelles Chlamydia infectantes.

Les Chlamydia sont, il faut le souligner, les seuls microorganismes bactériens dont les cellules filles n'ont pas le pouvoir infectieux et les propriétés de leur cellule mère (92).

Une étude des corps élémentaires puis des corps réticulés s'impose donc pour analyser cette particularité unique.

Il faut cependant préciser d'emblée que :

- les corps élémentaires, dotés d'une paroi rigide, représentant la forme de résistance et de dissémination extracellulaire des Chlamydia. Leur métabolisme est très réduit.

- les corps réticulés représentent la forme de reproduction des Chlamydia. Leur situation intracellulaire et une fine paroi leur permet, en effet, d'utiliser les substrats cellulaires indispensables à la mise en oeuvre de leurs capacités de synthèse.

II - BIOLOGIE DES CORPS ELEMENTAIRES -

21 - STRUCTURE

Les corps élémentaires sont petits (0,2 - 0,3 μ), parfaitement sphériques et possèdent un noyau dense (ADN et ARN condensés, en quantité égale).

Ils sont entourés d'une paroi rigide, qui ressemble à celle des bactéries Gram-. La présence d'acide muranique, de peptidoglycane et d'acides aminés soufrés principalement, rend cette enveloppe très résistante : un traitement ultrasonique de 15 minutes, auquel ne résiste aucune autre bactérie, laisse intacts 20 % des corps élémentaires présents dans la suspension (13).

Cette paroi intervient également dans les propriétés tinctoriales des Chlamydia en les rendant alcooloacidorésistantes.

Enfin, c'est cette paroi qui abrite l'antigène de groupe des Chlamydia et vraisemblablement les "ligands" qui, nous allons le voir, sont nécessaires à la virulence des corps élémentaires.

22 - POUVOIR INFECTIEUX

Les Chlamydia sont capables d'infecter nombre de cellules animales vivantes, et de s'y multiplier, sans être aucunement altérées par les lysosomes de ces cellules :

- dans les conditions naturelles, on met en évidence des Chlamydia dans des cellules épithéliales et endothéliales de l'intestin, du poumon, du placenta.

- dans les conditions expérimentales, les cellules L (fibroblastes de souris), les cellules Mc Coy (cellules synoviales humaines) et les cellules He La (provenant d'un cancer de col utérin humain) sont les plus couramment employées pour réaliser les tapis cellulaires nécessaires à la culture des Chlamydia.

Pour expliquer cette faculté de parasitisme intracellulaire, les chercheurs ont retenu et analysé deux propriétés chlamydiennes particulières :

- l'endocytose induite par la Chlamydia

- l'inhibition de la formation des phagolysosomes.

22.1 - L'endocytose induite par la Chlamydia

La pénétration d'une Chlamydia dans une cellule se divise en deux temps : l'adsorption puis l'introduction proprement dite.

a/. Attachement du corps élémentaire à la membrane de la cellule hôte

L'hypothèse de "récepteurs" de part et d'autre, a conduit à de nombreuses expériences. Celles-ci portent surtout sur les cellules-hôtes, en ce qui concerne l'adsorption :

- à la surface de cellules L un composant glucidique, la N-acétyl D- glucosamine (NAG) se comporte comme un récepteur vis-à-vis de Chlamydia psittaci, et Chlamydia trachomatis souche L G V (49). En effet, une lectine, l'agglutinine de germe de blé (WGA) qui s'attache spécifiquement et avec une grande affinité à ce NAG, empêche l'attachement des Chlamydia sur les cellules L.

- le DEAE dextran augmente l'adsorption de Chlamydia psittaci aux cellules He La, du fait de sa structure polycation ique qui "charge" la membrane cellulaire. Il n'a aucun effet sur les souches LGV de Chlamydia trachomatis (39).

- des vitesses d'adsorption différentes à 0° C entre différentes souches de Chlamydia, ainsi que les données précédentes indiquent, de plus, la possibilité que ces récepteurs soient spécifiques.

b/. Ingestion des Chlamydia

b_1/. Facteurs tenant aux Chlamydia

L'inactivation des Chlamydia par les UV (11) ou le méthyl méthane sulfonate, qui affectent tous deux l'ADN, ne modifie nullement le taux de pénétration cellulaire des Chlamydia. Donc celles-ci n'ont pas un rôle actif. Mais elles ne subissent pas, non plus, une simple phagocytose. En effet, le taux de pénétration des Chlamydia dans les cellules L est :

- 10 à 100 fois supérieur à celui observé lors de l'ingestion d'E. COLI ou de billes de polystyrène (12)

- réduit de 80 % par chauffage à 60° C pendant 3 mn (11).

- fortement réduit par action d'un antisérum chlamydien (12).

- inchangé par action de protéases ou de détergents (12).

Toutes ces expériences confirment l'existence de facteurs chlamydiens de surface, dénommés ligands, sensibles à la chaleur et aux anticorps, mais insensibles aux UV, détergents et, protéases.

b_2/. Facteur tenant à la cellule-hôte

* La centrifugation des Chlamydia avec des cellules hôtes augmente le taux d'infection, par modification probable de la surface cellulaire.

* Des sites récepteurs cellulaires, non spécifiques, sont nécessaires à l'ingestion des Chlamydia par des cellules L. La trypsine détruit ces sites. Le sérum de veau favorise leur régénération, contrairement à la Cycloheximide (11).

* Les microfilaments sous-membranaires, qui interviennent habituellement dans l'"encapuchonnement" cytoplasmique de la structure phagocytées ne sont pas nécessaires à la pénétration des Chlamydia.

En effet, la Cytochalasine B qui les inhibe se modifie en rien le taux d'infection cellulaire des Chlamydia (38). Faut-il alors parler de pinocytose ?

En conclusion, l'on retiendra l'hypothèse d'une "endocytose induite par le parasite". Les nombreux ligands qui entourent entièrement le corps élémentaire s'adaptent au niveau des récepteurs cellulaires spécifiques et une ingestion active du corps infectieux par la cellule s'en suit.

Mais ces corps élémentaires ingérés, entourés de la membrane cellulaire invaginée, forment ainsi une vacuole de phagocytose ou phagosome, qui doit résister à l'action des lysosomes pour que le cycle puisse se poursuivre.

22.2 - L'inhibition de la formation des phagolysosomes

Les lysosomes se lient à tout phagosome habituel, ce par reconnaissance membranaire, et entrainent sa destruction. Or, ce n'est pas le cas pour la vacuole chlamydienne.

La synthèse d'une protéine par la Chlamydia après son introduction ne peut pas en être la cause car le Chloramphénicol qui, ajouté à une culture cellulaire infectée, empêche la synthèse protéique des Chlamydia, ne facilite pas la formation des phagolysosomes (72).

Par contre, la chaleur (10 à 30 mn à 56° C) ou un antisérum spécifique qui agissent, comme nous l'avons vu précédemment sur les ligands chlamydiens, permettent la fusion phagosome lysosome (31).

Des macrophages mis expérimentalement en présence des corps réticulés, forme non infectieuse des Chlamydia et dépourvue de paroi, les phagocytent et les lysent sans difficultés (8).

Il apparaît donc que ces ligands, éléments de surface des corps élémentaires donc certainement pariétaux; soient responsables de la non reconnaissance par les lysosomes de la membrane de la vacuole chlamydienne. Or cette membrane est formée par invagination de la cellule-hôte. C'est donc avant, lors du contact avec les Chlamydia, que la structure de cette membrane, qui de cellulaire devient vacuolaire, est modifiée.

Nous allons voir, maintenant, que ces ligands sont aussi à l'origine de la cytotoxicité des corps élémentaires, en agissant de nouveau sur la membrane cytoplasmique des cellules hôtes.

23 - CYTOTOXICITE-

Celle-ci ne se produit que si le nombre des corps élémentaires est très élevé par cellule infectée :

- 100/1 pour les macrophages (110)

- 200 à 1000/1 pour les cellules L (58).

Cette toxicité apparaît bien avant la multiplication des Chlamydia.

Elle apparaît résulter de lésions de la membrane cytoplasmique de la cellule-hôte, lors de l'ingestion de la Chlamydia (58). En effet, un enzyme cytoplasmique (la deshydrogénase lactique) est retrouvé en quantité significative hors de la cellule, deux heures après pénétration des Chlamydia. Cette toxicité est abolie par la chaleur ou un antisérum, d'où la forte probabilité de l'intervention des ligands lors des lésions membranaires (109) (110).

24 - TRANSFORMATION EN CORPS RETICULE

Le nucléoïde disparaît : l'ADN acquiert une disposition moins compacte, donc plus accessible aux enzymes. La Rifampicine devient efficace, ce qui prouve une activation de la RNA polymérase. L'on assiste donc à une activation du métabolisme. Ensuite, la paroi rigide disparaît et une plus grande perméabilité membranaire va faciliter les échanges avec la cellule-hôte.

III - BIOLOGIE DES CORPS RETICULES

31 - STRUCTURE-

Les corps réticulés ont une taille de 0,6 à 1,1 μ. Leur paroi est fine. Leur forme est irrégulière, d'autant plus qu'un étranglement médian, signe de division par scissiparité, est souvent constaté.

L'ADN n'est plus condensé, mais disposé en un large réseau (d'où la dénomination de corps réticulé).

Le rapport $\frac{\text{ARN}}{\text{ADN}}$ est passé de 1 à 4.

32 - ABSENCE DE POUVOIR INFECTIEUX ET DE TOXICITE

Contrairement aux corps élémentaires, les corps réticulés ne peuvent être phagocytés par des cellules endothéliales ou fibroblastiques; et si la phagocytose est provoquée expérimentalement, ils ne peuvent résister à l'action des lysosomes (8).

Ils sont dénués de toute virulence, et de plus, de toute toxicité.

La différence de structure pariétale entre corps réticulé et corps élémentaire apparaît encore ici.

33 - METABOLISME DES CORPS RETICULES

33.1 - Capacités de synthèse des corps réticulés

a/.- Synthèse des composés glucidiques et énergétiques

Cette synthèse est plus qu'insuffisante. Les Chlamydia ne peuvent utiliser que la voie des pentoses pour métaboliser le glucose, et encore en puisant l'hexakinase et l'ATP, nécessaires à la formation du glucose-6-phosphate, à partir de la cellule-hôte (10).

D'après MOULDER (57), du pyruvate serait synthétisé par les Chlamydia à partir du ribulose-5-phosphate. Ce pyruvate, en présente de NAD réduit celui-ci en NADH, H^+ et se transforme en acétate. Ensuite, chez les autres bactéries, le $NADH,H^+$ est réoxydé en NAD dans la chaîne respiratoire de la phosphorylation oxydative, et l'acétate s'intègre dans le cycle de KREBS. Ce qui aboutit à la production d'ATP, molécule dont les liaisons sont hautement énergétiques.

Dans le cas des Chlamydia, ces deux réactions sont inexistantes, par absence des séquences enzymatiques nécessaires.

En conclusion, aucune production nette d'ATP, par les Chlamydia, n'a pu être mise en évidence, que ce soit à partir de glucose-6-phosphate, de pyruvate ou de glutamate. Ces microorganismes devront donc trouver toutes leurs sources d'énergie dans la cellule-hôte, d'où la nécessité de parasiter une cellule eucaryote, mais aussi d'avoir des échanges suffisants avec elle.

b/. Synthèse des acides nucléiques

Il faut tout d'abord rappeler qu'un acide nucléique (ARN ou ADN) est constitué de nucléotides, eux-mêmes formés par l'association de :

- une base azotée :
  - soit purique (l'adénine ou la guanine)
  - soit pyrimidique (la cytosine, la thymine spécifique de l'ADN ou l'uracile spécifique de l'ARN)

- un sucre (le ribose pour l'ARN, le désoxyribose pour l'ADN).

- une molécule d'acide phosphorique.

Un nucléoside désigne, lui, l'association simple base azotée sucre.

Un nucléoside triphosphate est un nucléotide auquel se sont fixés 2 ATP. Cette molécule, qui est donc très riche en énergie, représente le présurseur de la synthèse des acides nucléiques (67).

Dans le cas des Chlamydia, les acides nucléiques ne peuvent être élaborés directement par celles-ci à partir des bases puriques ou pyrimidiques. Les Chlamydia doivent puiser dans la cellule-hôte des molécules déjà chargée en énergie :

- cependant, elles n'utilisent par directement les acides nucléiques de la cellule-hôte (50).

- HATCH (40) a montré que la guanine n'es incorporée à l'ARN et à l'ADN des Chlamydia qu'après sa conversion par la cellule hôte, en guanosine triphosphate (GTP).

- un inbiteur de la transcription au niveau des mitochondries de la cellule-hôte empêche tout développement chlamydien ; donc l'activité des mitochondries de la cellule-hôte est nécessaire au développement des Chlamydia.

Ceci confirme que les Chlamydia ne peuvent produire leur énergie et qu'elles doivent la tirer de la cellule-hôte. Mais une fois cette énergie détournée, elles peuvent, grâce à leurs propres ribosomes et enzymes, synthétiser acides nucléiques et protéines (19).

b_1/. Synthèse de l'ARN

La synthèse d'ARN, appelée aussi transcription, débute vers la 10° heure du cycle, avec un maximum vers la 20° heure, pour Chlamydia psittaci, ce qui coïncide avec la population maximale des corps réticulés. En effet, dans les corps réticulés, le rapport $\frac{ARN}{ADN}$ est voisin de 4.

Cette transcription fait intervenir une ARN polymérase car elle est inhibée par la Ripampicine, antibiotique qui agit spécifiquement sur cet enzyme.

b_2/. Synthèse de l'ADN

Elle est plus tardive que celle de l'ARN : de la 15° à la 30° heure du cycle, pour Chlamydia psittaci (19).

Une particularité des Chlamydia est leur déficience en thymidine kinase, qui a laissé croire un moment qu'elles ne pouvaient incorporer la thymidine exogène (un des nucléotides) dans leur ADN (51).

HATCH (42) a depuis démontré que de la thymidine marquée est retrouvée, par autoradiographie, dans l'ADN chlamydien, ce si et seulement si les cellules parasitées possèdent, elles, la thymidine kinase.

L'absence d'incorporation dans les cellules dépourvues de thymidine kinase signifie que l'entrée de thymidine dans l'ADN chlamydien nécessite la conversion préalable par la cellule de la thymidine en nucléoside triphosphate.

De plus, l'entrée de thymidine exogène est très faible : 265 fois moindre dans l'ADN chlamydien que dans l'ADN de la cellule-hôte, bien que la composition des deux ADN précités comporte environ 30 % d'acide thymidylique. La découverte par HATCH, d'une si faible incorporation de thymidine ne contredit pas la suggestion répandue auparavant : cet acide thymidylique, présent dans l'ADN chlamydien, dérive aussi de la conversion (pratiquée cette fois par la Chlamydia elle-même, indépendamment de la cellule-hôte) de la déoxyuridine monophosphate (dUMP) en thymidine monosphosphate (16).

c/. Synthèse des protéines

La Cycloheximide, qui inhibe la synthèse protéique des eucaryotes, mais non des procaryotes, n'affecte pas les Chlamydia, d'où une indépendance totale, à ce niveau, entre Chlamydia et cellule-hôte, hormis des phénomènes de compétition possibles, si un acide aminé se trouve en quantité insuffisante dans le milieu. Cela a été démontré par HATCH (41) pour l'isoleucine. Les Chlamydia restent alors à l'état latent, sous forme de corps réticulés, sans que ceux-ci ne se multiplient.

d/. Synthèse du glycogène

La production de glycogène existe chez Chlamydia trachomatis, mais pas chez Chlamydia psittaci . La coloration par le lugol des inclusions intracytoplasmiques est donc un excellent moyen de diagnostic différentiel entre ces deux espèces.

e/. Synthèse de l'acide folique

La différence au niveau de la synthèse de l'acide folique permet aussi de séparer Chlamydia psittaci de Chlamydia trachomatis, de par leur résistance opposée aux sulfamides.

- Chlamydia trachomatis synthètise l'acide folique à partir de ptéridine substituée et d'acide paraaminobenzoïque. Elle est donc sensible aux sulfamides qui, analogues structuraux de cet acide, empêchent la synthèse correcte de l'acide folique nécessaire au métabolisme des corps réticulés.

- Chlamydia psittaci qui peut, elle, synthétiser l'acide folique à partir de précurseurs cellulaires sans intervention de l'acide paraaminobenzoïque, est insensible aux sulfamides.

33.2 - Phénomènes entraînant la mort de la cellule-hôte

Ces phénomènes sont au nombre de trois :

- le blocage de la synthèse de l'ADN cellulaire
- l'envahissement par la vacuole chlamydienne
- la lyse membranaire.

a/. Le blocage de la synthèse de l'ADN cellulaire

Parallèlement à l'augmentation de l'ARN puis de l'ADN chlamydien, se produit 15 à 20 heures après l'infection de la

cellule, une diminution de l'ADN puis de l'ARN cellulaire.

LIN (50) a prouvé qu'il ne s'agit pas d'une destruction des acides nucléiques préexistants, mais d'une inhibition de leur synthèse.

Deux hypothèses ont été retenues pour expliquer ce fait :

- CROCKER (16) a avancé l'idée d'une compétition parasite-hôte envers les précurseurs cytoplasmiques.

- LIN (51) a démontré que l'infection d'une cellule par une Chlamydia entraînait une diminution puis un arrêt de l'activité de la thymidine kinase présente dans cette cellule.

La cellule-hôte reste alors bloquée en phase G_1 du cycle cellulaire. Il est bon de rappeler que ce cycle de reproduction comporte 4 phases, M, G_1, S et G_2 :

- M est la mitose
- G_1 est la période pendant laquelle tous les enzymes nécessaires à la synthèse de l'ADN, thymidilate synthétase, ADN polymérase et bien sûr la thymidine kinase, sont produites.
- S est la phase de synthèse de l'ADN, ou réplication, qui permet aux deux cellules-filles d'avoir, après la mitose, le même patrimoine génétique que leur mère.
- G_2 suit S.

L'infection d'une cellule par des Chlamydia empêche donc le passage en phase S. Il ne peut donc y avoir de synthèse d'ADN, et par la suite de synthèse d'ARN.

La synthèse des protéines est inhibée plus tard, quand le pool d'ARN est épuisé.

En conclusion, l'on peut dire que la Chlamydia inhibe la synthèse macromoléculaire, en empêchant un nouveau cycle cellulaire.

b/. Envahissement par la vacuole chlamydienne

La vacuole chlamydienne augmente de taille au fur et à mesure de la multiplication des corps réticulés et de leur transformation en corps élémentaires.

Le noyau, en fin de cycle, est repoussé en périphérie de la cellule.

Les organites cellulaires souffrent aussi de cette gène mécanique.

c/. La lyse membranaire

La membrane de la cellule hôte est détruite en fin de cycle

- à ce moment, de nombreux lysosomes sont présents à la périphérie de la cellule (107). En éclatant, ils entraînent la lyse de la membrane cellulaire.

- la modification de la structure membranaire, lors du premier contact de la cellule avec les Chlamydia, peut aussi être un facteur favorisant cette lyse (72).

La membrane de la vacuole, elle, disparaît aussi en fin de cycle pour Chlamydia psittaci alors qu'elle est présente tout le cycle pour Chlamydia trachomatis (23).

Suite à ces lyses membranaires, les corps élémentaires présents, formés à partir des corps réticulés, sont libérés dans le milieu extérieur et un nouveau cycle débute si un corps élémentaire entre en contact avec une cellule voisine.

Etudions comment s'est opérée cette conversion des corps réticulés en corps élémentaires.

34 - TRANSFORMATION EN CORPS ELEMENTAIRES

Cette transformaition intervient au plus tôt après 4 ou 5 divisions du corps réticulé (19).

Cela se traduit par l'apparition du caractère infectieux de la vacuole chlamydienne, ce vers la 22° heure du cycle pour Chlamydia psittaci avec un maximum à la 36° heure.

La synthèse d'ADN redevient prépondérante et le rapport $\frac{\text{ARN}}{\text{ADN}}$ de 4 dans les corps réticulés redescend à 1. L'étude de cette cinétique grâce à la coloration des vacuoles à l'acridine orange (qui, sous microscope à ultra-violets révèle l'ARN en orange et l'ADN en vert) constituera un des examens du diagnostic direct.

Cet ADN reprend son aspect dense.

L'évènement le plus important est bien sûr la reconstitution d'une paroi rigide. La pénicilline, intervenant à ce niveau, empêche la formation des corps élémentaires (105) : les corps réticulés persistent, se multiplient et donnent des formes géantes de grande fragilité.

Les corps élémentaires, ainsi formés, seront libérés dans le milieu extérieur après lyse de la cellule hôte et pourront exprimer alors leur pouvoir infectieux.

CHAPITRE III

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE L'AVORTEMENT CHLAMIDIEN CHEZ LA CHEVRE

I - EPIDEMIOLOGIE -

Un compte-rendu chronologique des premières mises en évidence à un niveau national, de chlamydiose abortive caprine, puis une étude de foyers français plus récents nous conduiront à préciser l'évolution générale de cette maladie.

* en ALLEMAGNE (88). Les deux chèvres d'une même ferme avortent. Leur sérologie est positive au 1/160. L'infection semble résulter d'une contagion à partir de moutons infectés. Une vache de la ferme présente une sérologie négative.

* en BULGARIE (87). Des chèvres atteintes de pneumonie avortent. Leur sérologie est positive, ainsi que celle de la plupart des autres chèvres. De nombreux chevreaux sont atteints de pneumonie. L'introduction préalable de brebis atteintes de pneumonie et ayant mis bas des agneaux chétifs est sans doute à l'origine de la maladie. Un traitement est institué : 2 séries de 3 à 5 injections d'Oxytétracycline, à 7 jours d'intervalle, stoppent les avortements et les pneumonies, et abaissent le taux de sérologies positives à 3 % (taux de 30 % chez des animaux non traités).

* en ESPAGNE (4). Quatre foyers de chlamydiose abortive caprine sont décrits. Les fréquences d'avortement et de mortalité post-natale sont :

51 % dans un troupeau de 380 chèvres
5 % dans un troupeau de 250 chèvres
12,5 % dans un troupeau 400 chèvres
23 % dans un troupeau de 130 chèvres.

L'existence d'avortements chlamydiens simultanés chez des ovins et des bovins peu éloignés laisse admettre une liaison très probable entre les différentes infections.

* aux ETATS UNIS (53). Des avortements se déclarent dans un troupeau de 216 chèvres, (94 primipares et 122 multipares) environ deux semaines avant la date présumée du part, avec des extrêmes de 1 à 4 semaines.

Sur les 62 chèvres mettant bas les deux premiers mois de la saison de parturition, une seule avorte et trois présentent une baisse de l'état général, une légère fièvre avec inappétence et diminution de la production lactée.

Mais le mois suivant, 38 % des 45 nouvelles mères (plus précisément 25 % des primipares et 50 % des multipares mettant bas) avortent.

Un traitement Pénicilline - Streptomycine est institué dans la seconde moitié de la saison de parturition, c'est-à-dire les 3 derniers mois.

Les moyennes relevées finalement sont celles-ci :

- parmi toutes les mises bas :
  - .12 % d'avortements (pourcentage similaire chez les primipares et les multipares)
  - .15 % de chèvres affaiblies.

- parmi les mises bases normales :
  - .10 % de chèvres malades, ce qui laisse supposer aux auteurs une autre entité pathologique associée (ubi infra).

- parmi les avortements :
  - .50 % de chèvres affaiblies
  - . 1 chèvre sur 3 donne naissance à des chevreaux qui meurent en 1 à 3 jours, les autres mettent bas des morts-nés peu ou pas altérés.

Dans l'ensemble, aucun prodrome n'a été décelé. Le taux de rétention placentaire n'est pas augmenté. La production laitiè-

re est normale. Il n'existe ni complication pulmonaire, ni métrite, mais des cas de kératite apparaissent en fin d'épizootie (déjà décelée les années précédentes) et une dizaine de chèvres souffrent d'arthrite 2 mois après.

Une enquête épidémiologique atteste de l'introduction, quelques mois avant l'épizootie, de 48 femelles et 2 boucs d'un même troupeau.

Or celui-ci avait été le siège, les 3 années précédentes, d'avortements de primipares.

Sur ces 48 chèvres, on dénombre 19 primipares dont 3 avortent et 29 multipares dont 1 seule avorte.

Quelques conclusions intéressantes doivent être signalées :

- l'épizootie se déclare durant la saison de parturition suivant immédiatement l'introduction de chèvres provenant d'un troupeau non sain. Se pose ici le problème du mode de contamination, d'autant plus que la première chèvre avortant n'est pas une de celles introduites.

  Si les Chlamydia n'ont pas été, à l'origine, disséminées durant un avortement, elles ont pû l'être au cours de défécations, de mictions, de mises-bas normales ou d'avortements précoces non décelés.

- parmi les chèvres nouvellement introduites, les primipares sont plus touchées par les avortements (15 %) que les multipares (4 %); par contre, dans le troupeau receveur, cette différence est inexistante. Une immunité existe donc chez les multipares du troupeau donneur.

- les femelles saillies par les 2 boucs introduits présentent un taux d'avortement élevé, de 28 % (6 sur 21). Mais ces chèvres, saillies assez tard, ne mettent bas qu'à partir du quatrième mois de la saison de parturition et ont donc pu être en contact avec des avortements antérieurs, dès leur troisième mois de gestation.

La contamination a donc pû être autre que vénèrienne, d'autant plus que 2 des 6 chèvres en question proviennent du troupeau non sain.

- sur 26 avortements in toto, 18 ont lieu avant mise en oeuvre du traitement et 8 après, ce qui représente, pour une durée similaire, respectivement 17 % et 7 % des mises bas.

Le traitement a donc réduit le nombre des avortements. Par contre, le pourcentage de chèvres altérées, ayant ou non avorté, varie peu : 13 % avant, 17 % après traitement; ce qui corrobore l'hypothèse d'une entité morbide secondaire; en effet, les examens cliniques ont révélé des hémorragies utérines, non caractéristiques de la chlamydiose.

* en FRANCE (26). Dans le Sud-Est, où auparavant la brucellose était considérée comme cause quasi unique des avortements caprins, un troupeau de 200 chèvres est touché en 1969 par une vague d'avortement enzootique : 38 % des primipares avortent. L'année suivante, 3 nouvelles primipares parmi 30 sujets isolés avortent derechef, dont l'une au troisième mois de gestation.

Le fait que seules les primipares avortent, laisse envisager une immunisation des multipares, ce qui induit l'existence préalable de chlamydiose en FRANCE, ce antérieurement à cette première publication de FAYE.

* en INDE (43). Des avortements tardifs sont révélés chez 77 brebis et 3 chèvres dans un troupeau où coexistent des naissances prématurées.

* au TCHAD (48). Dans un troupeau de 153 chèvres, comprenant 106 reproductrices, on compte 19 avortements sur 93 mises bas (environ 20 %). Des prises de sang sont

effectuées, suite aux avortements, sur 86 chèvres et 20 boucs.

Il est à noter que pour cet auteur, sont considérés comme positifs des sérums présentant une hémolyse totale au 1/20 et plus. Les sérums positifs au 1/80 et plus (seuil de dilution retenu en général comme révélateur de chlamydiose abortive) ne constituent que le tiers des sérums considérés ici comme positifs. Les chiffres cités ci-dessous sont donc à minorer :

- 35 % des mâles ont une sérologie positive. Ce taux est de 60 % chez les femelles avec, par tranche d'âge, chez les chèvres :

  .de moins d'un an : 15 %)
  .de 1 à 2 ans : 64 %) de sérologie positive
  .de plus de 2 ans : 80 %)

La présence d'anticorps augmente donc avec l'âge.

En fonction des résultats de la fixation du complément (effectuée, je le rappelle après la vague abortive), ont avorté:

- 42 %, des chèvres gestantes et avant une sérologie positive.
- 17 %, des chèvres gestantes et ayant une sérologie négative.

Des sérologie négatives sont donc mises en évidence lors d'avortements, mais sans précision quant à la date de la prise de sang par rapport à l'avortement.

* en GRANDE BRETAGNE (1). Un effectif de 24 chèvres est atteint par la chlamydiose :

- 5 femelles avortent
- 1 chevrette | normalement mais expulse un placenta infecté

- 3 mettent bas des chevreaux faibles, non viables.

Les chèvres étaient en contact avec des brebis qui avaient connu des antécédents chlamydiens.

Elles avortent toutes en fin de gestation (du 123° au 149° jour) et ne sont guère perturbées.

Les titres en anticorps fixant le complément, recherchés entre 6 et 12 semaines après l'avortement, sont variables : 1 à 1/256, 1 à 1/128, 1 à 6/64, 3 à 1/32 et 2 à 1/16, ces deux derniers étant considérés comme négatifs.

Tous les placentas étudiés sont riches en Chlamydia et présentent d'importantes lésions. Les foetus, eux, ont une apparence normale pour leur stade de gestation respectif et ne sont pas altérés.

Le premier avortement est suivi d'un second 13 jours plus tard, lui-même précédant les autres de 14 jours; les auteurs estiment que ces périodes de 2 semaines correspondent à la durée d'incubation ; ainsi, d'après eux, une chèvre contaminée le quatrième mois de gestation peut avorter durant cette même gestation. Cela représenterait une différence notable avec les brebis, qui, elles, avortent généralement lors de la gestation suivant le contact contaminant. En effet, leur période d'incubation supérieure (6 semaines environ expérimentalement, d'après l'auteur) entraîne une contamination utérine trop proche du terme pour être abortigène.

Notre expérimentation personnelle d'infection expérimentale chez la chèvre ne corrobore pas cette hypothèse : en effet, la durée moyenne de la gestation après inoculation chlamydienne est de 6 semaines, le premier avortement se produisant seulement 24 jours après l'injection intradermique de Chlamydia (cf paragraphe 21 du chapitre suivant).

En FRANCE, plusieurs autres cas de chlamydiose abortive caprine nous apportent des renseignements supplémentaires quant aux modalités de cette enzootie :

* Une vague abortive, en 1975, dans un troupeau de chèvres appartenant à l'INRA (73) (74), se révèle être d'origine chlamydienne.

25 chevrettes, nées au printemps 1976, sont séparées du troupeau infecté et élevées en allaitement artificiel après avoir pris du colostrum pendant 24 heures. Elles sont réintroduites dans la chèvrerie, séparées du reste du troupeau par une simple barrière, à l'âge de 4 mois. Elles présentent toutes à cet âge une sérologie négative en fixation du complément.
Ces 25 chevrettes sont saillies à l'âge de 7 mois.Leur sérologie a alors évolué :.13 chevrettes ont une sérologie positive, égale ou supérieure à 1/80 en fixation du complément. L'issue de leur mise en lutte donne :

- 7 parts normaux
- 3 avortements
- 3 non gestantes.

.Au contraire, parmi les 12 chevrettes négatives au moment de la lutte :

- 2 mettent bas normalement
- 7 avortent
- 3 sont vides.

Au total, sur les 9 chevrettes qui mettent bas normalement, 7 avaient une sérologie positive à la saillie, et sur les 10 qui avortent 7 avaient une sérologie négative. Il y a donc, dans ce cas, corrélation positive entre :

- mise bas normale et sérologie positive à la saillie
- avortement et sérologie négative à la saillie.

Après la saillie, tous les titres sérologiques décroissent et deviennent négatifs, avec des minima voisins, de 1/20 en fixation du complément, atteints le troisième mois de gestation.

Ce n'est qu'au cours du quatrième mois que les chèvres qui vont avorter, voient leur sérologie devenir positive, avec des valeurs en fixation du complément supérieures à 1/160.

En conclusion, cette expérience nous apporte deux informations complémentaires :

- durant les trois premiers mois de gestation, la fixation du complément se révèle inefficace dans l'élaboration d'un diagnostic.

- quant au pronostic, la présence d'anticorps fixant le complément, au moment de la saillie, c'est-à-dire avant la gestation, semble protéger l'animal.

* dans un troupeau de 40 chèvres (29), sans antécédents de chlamydiose, 100 % des chèvres avortent dans les 15 jours précédant la date de mise bas normale. Quatre examens sérologiques sont effectués:

  - sur 2 chèvres ayant récemment avorté, le taux en fixation du complément est de 1/640.

  - sur 2 autres chèvres ayant avorté quelques semaines plus tôt, les taux sont de 1/80 et 1/160.

Dans ce troupeau "neuf", la chlamydiose est donc responsable de la perte de tous les chevreaux.

* dans un effectif de 75 chèvres, parmi lesquelles 18 primipares, 4 avortements apparaissent sur environ 40 mises bas (29). Tous le troupeau est vacciné avant la saison de lutte suivante : aucun avortement ne survient. L'année suivante, la vaccination n'est pas poursuivie et 11 primipares avortent, car non immunisées. Les adultes, elles, n'avortent pas. Or, les examens sérologiques, effectués après

la période d'avortement, ne reflète nullement cette opposition (cf tableau ci-dessous).

Résultat en fixation du complément de sérums prélevés sur 6 adultes et 3 chevrettes, après avortement de chevrettes.

Titres en fixation du complément	Adultes immunisées n'ayant pas avorté	Primipares non immunisées, avortant.
1/10	3	1
1/20	2	1
1/80	1	1

Il semble plus juste de dire que ce sont les titres sérologiques individuels, décelés par fixation du complément après l'avortement ou la mise bas qui ne sont pas révélateurs de la protection des animaux contre la chlamydiose car dans l'étude du troupeau de l'INRA, une corrélation entre des titres sérologiques positifs au moment de la saillie et l'existence d'une défense immunologique a pû être avancée.

De plus, comme lors de l'épizootie au TCHAD, des avortements sont accompagnés de sérologies négatives. Une réaction négative en fixation du complément, à l'échelon individuel, ne permet donc en aucun cas de nier :

- la survenue même récente d'un avortement chlamydien, non décelé de visu;
- l'étiologie chlamydienne de l'avortement.

* Le diagnostic sérologique de la chlamydiose doit donc toujours être un diagnostic de groupe.

* Un avortement chlamydien n'est pas indubitablement suivi d'une augmentation des anticorps sériques.

Un dernier exemple introduit la notion d'évolution cyclique de la chlamydiose caprine

* en HAUTE SAVOIE (5), une étude sur 4 années successives est menée dans 17 exploitations :

- en 1977, 8 troupeaux présentent des sérologies positives; des avortements se manifestent dans seulement 3 d'entre eux, avec 10 à 25 % des effectifs atteints.

- en 1978, seules quelques chèvres introduites ou quelques chevrettes avortent.

- en 1979, 16 troupeaux sont sérologiquement positifs et 9 sont touchés par les avortements, avec dans certains cas 50 % du troupeau atteint. Des cas d'arthrite et de kératoconjonctivite sont décrits.

- en 1980, de nouveau une baisse très significative du nombre des avortements est signalée.

Trois points méritent d'être retenus :

* L'immunité post-abortive protège les adultes seulement une année, et est donc peu durable dans ce cas.

* Les nombreuses chevrettes, nées l'année où le nombre de mises-bas à terme est quasi normal, sont néanmoins contaminées et avortent à leur première gestation, c'est-à-dire l'année suivante, ce qui augmente le pourcentage des avortements dans l'exploitation.

* Le nombre total d'exploitations touchées par les avortements augmente fortement en 2 ans, ce qui implique une dissémination à distance, c'est-à-dire un mode de contagion indirect de la chlamydiose.

Toutes ces observations nous montrent les différentes possibilités d'apparition et d'évolution de la chlamydiose abortive caprine, et vont nous permettre de résumer l'aspect général de cette maladie :

Lorsque la chlamydiose survient dans un troupeau de chèvres, 10 à 100 % (généralement de 30 à 50 %) des femelles gestantes avortent ou mettent bas des chevreaux chétifs. Ces avortements se produisent le plus souvent dans les dernières semaines de la gestation, mais peuvent apparaître dès le quatrième mois. Quelques prodromes sont parfois observés : inappétence, arrêt de la rumination, "pertes" vulvaires discrètes. Après l'avortement, les écoulements vulvaires sont beaucoup plus importants, de couleur brunâtre, "crème de marrons". Les mères sont assez souvent affectées (et peuvent même décéder) car les rétentions placentaires ne sont pas rares, contrairement aux brebis. Les placentas expulsés sont peu pathognomoniques. Les cotylédons sont épaissis et rouge sombre ou nécrosés et de couleur grisâtre.

L'année suivante, si aucune prophylaxie n'est instaurée, seules les primipares (10 à 50 % d'entre elles) ou des adultes introduites entre temps avortent. Donc le nombre des avortements diminue fortement par rapport à l'année précédente (ce qui conforte l'éleveur dans son idée de ne pas faire vacciner ses chèvres). D'autant plus que les multipares restent alors 1 à 3 ans sans avorter de nouveau; mais quand elles perdent l'immunité qui les protégeait, une nouvelle enzootie s'abat sur le troupeau qui a eu le temps de s'accroître. Le nombre des avortements est alors très importants et les pertes pour l'éleveur en sont d'autant plus graves.

II - ETIOLOGIE -

Dans ce chapitre, nous allons tenter d'analyser les divers facteurs étiologiques, plus ou moins bien précisés, dont résultent les précédentes données d'épidémiologie descriptive.

21 - SOURCES VIRULENTES

Les eaux foetales, le placenta surtout au niveau des cotylédons où l'épithélium chorial est le plus lésé (104) et le foetus, en clair tout le contenu de l'utérus gravide est très riche en Chlamydia.

L'avortement est donc le facteur de dissémination le plus important. Mais des parts normaux de brebis contaminées peuvent aussi être accompagnés d'excrétion vaginale de Chlamydia.

La présence de Chlamydia vivantes dans les fécès de chèvres apparemment saines, ainsi que parmi des poussières prélevées de leur pelage ou du sol de leur enclos, a été mise en évidence par OMORI (60), par culture in ovo ou in vivo (intrapéritonéale sur cobayes). Le même auteur isole parmi d'autres chèvres saines, mais issues d'un contexte de pneumonie chlamydienne, des Chlamydia dans les fécès, mais en aucun cas dans le lait ou le jetage. Cependant, chez une brebis avortée (56), le lait et l'urine se sont révélés virulents pendant respectivement 134 et 67 jours.

Le sperme est aussi un vecteur de contamination. Ce fait a été démontré chez les ovins :

- infectés expérimentalement, des béliers excrétent des Chlamydia dans leur semence (103).

- RODOLAKIS et BERNARD (75) ont isolé en 1977 des Chlamydia dans l'épididyme, les testicules, les glandes de Cowper et les glandes séminales de béliers, atteints d'épididymite clinique contractée soit in utéro, soit au contact de leur mère infectée. Leur sperme de mauvaise qualité était très probablement porteur de Chlamydia.

- depuis, I.D. AITKEN du Moredum Institute EDIMBURG a démontré la transmission de l'infection par le sperme.

22 - RESISTANCE DU GERME -

Les corps élémentaires, entourés de leur paroi, sont la seule forme de résistance des Chlamydia dans le milieu extérieur.

22.1 - Dans les conditions naturelles

- les Chlamydia peuvent survivre, en fonction de la putréfaction 4 ou 5 jours dans les lochies et les placentas (83).

- les radiations UV s'ajoutent à la dessication pour détruire les Chlamydia, mais une durée de 7 mois est nécessaire pour annihiler tout risque de contamination par les pâturages.

- dans des fécès laissées à température ambiante, qui ont séché et se sont couvertes de moisissures, OMORI (60) a isolé des Chlamydia au bout de 5 jours.

22.2 - Au laboratoire

- des fécès, placées en boîte de Pétri, entre 5 et 8° C, conservent des Chlamydia vivantes une dizaine de jours (60).

- RODOLAKIS (73) a étudié la résistance des Chlamydia cultivées sur oeuf, à une température de + 4° C; le taux de survie n'est que de 10 % après 24 heures, 5 % au bout de 48 heures et 1 % le troisième jour.

- seule une température inférieure à - 70° C peut préserver indéfiniment une souche de Chlamydia (92) sous forme de corps élémentaires.

23 - RECEPTIVITE ET SENSIBILITE -

Ces deux états doivent, avant tout, être définis et bien individualisés.

- un organisme est réceptif à un agent pathogène si ce dernier peut l'envahir et s'y reproduire.

- un organisme est sensible s'il laisse s'exprimer l'action pathogène du germe qui l'a colonisé.

La réceptivité correspond donc à l'introduction et à la multiplication du germe dans l'organisme, la sensibilité à l'apparition de troubles et l'expression de symptômes.

23.1 - Milieu et conditions d'élevage

La stabulation libre, avec de fortes densités d'animaux au mètre carré, est chose courante du fait de l'instinct fortement grégaire des chèvres. De plus, leur curiosité et leur vitalité entraînent de fréquents contacts entre elles. Tous ces éléments sont très favorables à la contamination chlamydienne.

23.2 - Espèce hôte et spécificité du Chlamydia

Des constatations essentiellement cliniques sont à l'origine

de la dénomination de variétés : ovis, bovis, conjunctivae... parmi l'espèce Chlamydia psittaci. Or certains auteurs substituent à Chlamydia psittaci var ovis, bovis... simplement Chlamydia ovis, bovis... C'est là une liberté de langage que n'étaie guère l'étude de la spécificité du pouvoir pathogène des Chlamydia :

a/.- Dans les conditions naturelles

a_1/. tropisme d'espèce

- BLANCO (4) observe une simultanéité d'infections chlamydiennes chez des ovins, des bovins et des caprins.

- STAUB (88) suppose une contamination des chèvres par les ovins.

- En FRANCE, la chlamydiose caprine est à la remorque de la chlamydiose ovine (55). Et les régions atteintes sont analogues (13).

- CHANFORAN (13) relate une observation de GIAUFRET (Laboratoire de Pathologie des Petits Ruminants à NICE) :

  dans un troupeau mixte de 150 ovins et 100 caprins, où sévissaient chaque année des avortements sur une partie des primipares, des sérologies positives ont été relevées à la fois chez des chèvres et des brebis. Une vaccination anti-chlamydienne des jeunes gestantes ovines et caprines, à l'aide d'un vaccin préparé à partir d'une souche ovine, a stoppé tout avortement.

- Par contre, BLONDEAU (5) n'a jamais constaté soit sérologiquement, soit cliniquement, d'infections simultanées dans des exploitations où cohabitent bovins et caprins.

a_2/. tropisme d'organe

- STORZ (91) observe des avortements et des polyarthrites dans un même troupeau ovin, mais à des saisons différentes. Les deux souches se révèlent antigéniquement différentes.

- VOLLHARDT (13) décrit la présence de pneumopathies chez des caprins adultes, surtout mâles, l'année suivant l'apparition d'avortements chlamydiens.

- STORZ (96) souligne, chez les Ruminants, la non simultanéité des différentes pathologies chlamydiennes (avortement, encéphalite, polyarthrite ou pneumonie) dans un troupeau donné, dans une région donnée.

Ces données cliniques qui reflètent un tropisme d'organe très marqué s'opposent à l'expérimentation qui elle, nous allons le voir, permet de modifier le tropisme d'organe initial.

b/. Expérimentalement

L'espèce Chlamydia psittaci n'est pas divisée en sérotypes distincts et précis, contrairement à Chlamydia trachomatis qui, rattachée à la pathologie humaine, a été étudiée plus à fond. Diverses expériences ont néanmoins été réalisées in vivo et in vitro pour essayer de différencier les agents microbiens de l'espèce Chlamydia psittaci.

b_1/. in vivo

* l'infection expérimentale

Celle-ci a recours à des inoculations croisées. Le but est de provoquer des modifications du pouvoir pathogène initial d'une souche de Chlamydia donnée.

Mais cette expérimentation qui nécessite l'isolement des Chlamydia puis leur culture avant inoculation, doit être analysée en sachant qu'elle peut, d'elle-même, intervenir sur les résultats du fait des manipulations qu'elle comporte :

- RODOLAKIS (73) indique qu'une souche cultivée sur oeuf est, à nombre de Chlamydia vivantes égal, cinquante fois plus virulente pour la souris que la même souche cultivée sur cellules.

- BECCERA (2) relate que des brebis infectées avec une souche de Chlamydia adaptée à l'embryon de poulet excrètent des Chlamydia dans leurs fécès, contrairement à celles inoculées avec la même souche cultivée sur cellules.

Etudions néanmoins les résultats ayant pu être obtenus au niveau de :

- la variation du tropisme d'organe :

.des Chlamydia isolées de fécès de brebis gestantes se révèlent abortives chez ces mêmes brebis après inoculation intramusculaire (90).

.chez des ovins, des Chlamydia isolées après pneumonie, après avortement ou lors de chlamydiose intestinale, provoquent toutes des pneumonies après inoculation intratrachéale (20).

- la variation du tropisme d'espèce :

.des Chlamydia isolées après pneumonie chez des chèvres, entraînent des lésions pulmonaires chez des bovins, des ovins, des porcs et des chevaux (59).

- la variation simultanée des deux tropismes :

.des Chlamydia pathogènes pour des moutons entraînent de l'ornithose chez les dindons (65).

.BUZONI (9) provoque des avortements chez des souris par administrations per os ou intrapéritonéale de Chlamydia isolées de fécès et de placentas de brebis.

* la séroneutralisation croisée

Les Chlamydia abortives, d'origine ovine et bovine, sont neutralisées par un sérum anti-Chlamydia intestinales. Au contraire, des Chlamydia d'origine articulaire ne sont pas sensibles à ce même sérum (99).

* l'immunisation contre l'effet toxique des Chlamydia

Bien que les Chlamydia isolées chez les mammifères (hormis l'homme) soient très toxiques comparées aux souches aviaires (93), l'immunisation expérimentale antitoxinique est très spécifique, supérieure même à la séroneutralisation croisée (83).

b_2/. in vitro

* la culture sur cellules

BUZONI (10) établit une différence entre les Chlamydia abortives et intestinales ovines, quant à la température optimale de multiplication en culture cellulaire :

- la température idéale, pour les 2 souches qui est de 38°C.

- une diminution de température, de 2° C, est fort préjudicia-

ble au développement des Chlamydia intestinales, alors qu'elle affecte bien modérément les Chlamydia abortives qui peuvent même se multiplier à une température de 33° C.

* la fixation du complément

En FRANCE, les sérums caprins sont testés, sans aucun problème, avec l'antigène "Chlamydia ovis".

* l'immunofluorescence

La souche AC_1 (Avortement de chèvre) isolée en FRANCE par FAYE (26) se révèle, en immunofluorescence, analogue à la souche ovine, vis-à-vis du sérum de référence anti "Rakeia ovis".

* l'électrophorèse

La composition polypeptidique de 4 souches de Chlamydia, 2 ovines, 1 bovine et 1 caprine, se révèle remarquablement similaire (14).

Finalement, cette énumération non exhaustive de techniques mises en oeuvre, reflète d'elle-même la difficulté d'établir une distinction entre les différentes Chlamydia psittaci isolées jusqu'alors. D'ailleurs, les résultats obtenus semblent aller en faveur d'une absence de spécificité. Comme le souligne RUSSO (85) : "Il est à l'heure actuelle impossible de préciser si une Chlamydia psittaci d'origine inconnue provient d'un bovin, d'un ovin ou d'un caprin et encore moins de définir son origine abortive ou intestinale".

23.3 - Sexe

L'expression clinique est beaucoup plus évidente chez les femelles (avortement) que chez les mâles (épididymite uni ou bilatérale). Le bouc atteint peut néanmoins présenter des problèmes de stérilité et entraîner ainsi une baisse de fertilité dans le troupeau (observation précédant parfois la vague abortive).

Le danger de tels mâles infectés est d'autant plus grand que leurs titres en anticorps fixant le complément peuvent être négatifs ou non significatifs (75). Il faut donc, comme à l'habitude, tenir compte de l'état sanitaire de l'ensemble du troupeau.

23.4 - Age

Nous avons vu, dans l'épidémiologie descriptive que toutes les gestantes pouvaient être touchées par la maladie, mais ce sont les chevrettes qui avortent le plus fréquemment. La différence entre primipares et multipares est quand même moindre que chez les brebis, car l'immunité des chèvres est moins durable (55).

23.5 - Stade de gestation

Des études ont été faites chez les ovins uniquement, qui montrent que les brebis vides ou en fin de gestation sont moins sensibles à la contamination que les brebis gravides de 0 à 100 jours (63) (109).

Le groupage artificiel des chaleurs se révèle ici un atout dans la prophylaxie de la chlamydiose. En effet, l'avortement se produit le plus souvent le dernier mois de gestation. Si les chèvres voisines non encore contaminées sont, elles aussi, en fin de gestation, leur mise bas pourra être normale puisque leur sensibilité aux Chlamydia est faible près du terme.

Seul l'avortement précoce, dans ce cas, représente un réel danger immédiat. Se produisant dans la période vulnérable des 100 jours, il peut entraîner l'avortement des gestantes en contact.

Mais cette sensibilité moindre des mères en fin de gestation ne doit pas occulter le fait que leur réceptivité reste totale.

Les mères donc, peu sensibles mais néanmoins réceptives se contaminent et les Chlamydia ingérées (ou inhalées) pourront développer leur pouvoir pathogène durant la gestation ultérieure.

Les chevreaux, eux, naissant quelques semaines seulement après les avortements sont des hôtes idéaux pour les Chlamydia et des vecteurs fort dangereux, d'autant plus dangereux que leurs titres sérologiques ne sont aucunement révélateurs (70).

23.6 - Affections intercurrentes

a/. D'origines diverses

Tous les agents, infectieux ou non, diminuant les défenses de l'organisme peuvent faciliter une contamination chlamydienne.

b/. D'origine chlamydienne

Un problème particulier est celui des autres entités chlamydiennes; STORZ avance que toutes les souches chlamydiennes ont la propriété commune d'infecter le foetus et le placenta (96). Fait corroboré expérimentalement par les inoculations croisées, nous l'avons vu lors de l'étude sur la spécificité des Chlamydia, mais qui dans les conditions naturelles ne se traduit pas cliniquement puisque l'avortement, l'encéphalite, la polyarthrite et la pneumonie s'expriment toujours,

chez les ruminants, séparément l'une de l'autre (96).

Mais en ce qui concerne la chlamydiose intestinale latente, sa coexistence avec les formes cliniques précitées ne fait, au contraire, aucun doute :

- le tube digestif apparaît être, chez les Ruminants, l'habitat naturel des Chlamydia (96).

- l'excrétion de Chlamydia dans les fécès accompagne presque invariablement l'avortement, la pneumonie ou l'arthrite chlamydienne (96).

- l'avortement est toujours précédé de chlamydiose intestinale (97). Mais BUZONI souligne que les Chlamydia excrétées dans ce cas, se différencient par leur caractère invasif pour les souris, de celles isolées de fécès de porteurs sains (9) .

La chlamydiose intestinale ne peut donc être dissociée de la chlamydiose abortive.

Or, la fréquence élevée de sérologies faiblement positives dans les troupeaux caprins français tend à affirmer l'omniprésence de cette chlamydiose latente. D'où l'intérêt majeur qu'elle suscite, notamment à trois niveaux :

* Quels sont ses causes et ses effets ?

* Peut-elle entraîner une chlamydiose abortive ?

* Peut-elle protéger son hôte contre l'avortement ?

* Quels sont ses causes et ses effets ?

Du fait de l'absence de symptômes, certains auteurs font intervenir des Chlamydia non pathogènes qui, par arrêt précoce dù cycle de développement, restent à l'état de formes réticulées, non infectieuses (105).

Expérimentalement, le cycle peut être stoppé à ce niveau, soit par une déficience nutritionnelle au sein de la cellule hôte (57), soit par l'emploi d'antibiotiques, tels que la Pénicilline, qui interrompant la synthèse de la paroi, empêchent la formation des corps élémentaires.

Mais ces formes réticulées, nous l'avons vu, sont plus sensibles aux défenses de l'organisme que les corps élémentaires infectieux. Il semble donc peu convaincant que cette chlamydiose latente soit entretenue ainsi.

C'est pourquoi, d'autres auteurs proposent, au contraire, la persistance de corps infectieux uniquement, mais en nombre limité, avec absence de maturation en corps réticulés. L'emploi d'antibiotiques, tels que la Tétracycline, illustre cette hypothèse. Seuls les germes en phase de maturation (les formes réticulées dans le cas des Chlamydia) sont détruits. Subsistent donc seulement les corps infectieux. Mais ne pouvant se différencier en corps réticulés, ils ne provoquent pas de lyse cellulaire, donc pas d'action pathogène.

D'ailleurs, chez les animaux atteints de chlamydiose latente, il est facile d'isoler des corps infectieux à partir du tractus intestinal (97). C'est la raison pour laquelle on parle le plus souvent de chlamydiose intestinale latente, puisque c'est à partir d'examen de fécès que l'on découvre l'existence de Chlamydia.

Une expérience décrite par PAGE (61) appuie le fait qu'une thérapeutique à base de Tétracycline entraîne une latence et non une stérilisation microbienne : des génises excrètent des Chlamydia dans leurs fécès; après un traitement prolongé à la Chlortétracycline, l'isolement de Chlamydia devient impossible; mais un an après, les génisses éliminent de nouveau des Chlamydia dans leurs excréments. Une réinfection paraît peu probable car les génisses sont gardées dans une étable saine. La rémanence de la "maladie", et la latence des Chlamydia sont donc dues au traitement.

* Cette chlamydiose intestinale latente peut-elle être à l'origine d'une chlamydiose abortive ?

La chlamydiose intestinale latente représente un équilibre entre l'hôte et la bactérie, parasite intracellulaire obligatoire. Les cellules intestinales détruites par la multiplication des Chlamydia sont, du fait de leur "turn-over" constant et très rapide, régénérées en permanence, et aucune manifestation pathologique n'apparaît. Ces Chlamydia semblent donc se cantonner au niveau du tube digestif.

Mais l'avortement nécessite, lui, la colonisation de l'utérus, donc une chlamydémie préalable (si l'on excepte la transmission vénérienne).

Or, la présence de Chlamydia dans le tube digestif n'entraîne pas obligatoirement une dispersion des Chlamydia dans la circulation sanguine :

- POPOVICI (66) a inoculé des veaux, per os, avec des Chlamydia isolées de fécès de veaux sains et d'ornithose aviaire; des Chlamydia ont pu être isolées dans les fécès (dès le septième jour, pendant les 3 mois de l'expérimentation) ainsi qu'au niveau du tube digestif; mais aucune Chlamydia ne fut retrouvée dans les poumons, le foie, la rate, les reins, ce 24, 42 et 88 jours après inoculation. Aucun symptôme ne résulta de cette inoculation per os.

- des génisses (61) et des chèvres (59) excrètent des Chlamydia dans leurs fécès, sans receler d'anticorps fixant le complément dans leur sérum.

Ces observations attestent qu'une chlamydiose intestinale n'implique pas obligatoirement, faute de chlamydémie, une chlamydiose clinique grave, abortive ou autre.

Mais, a contrario, cette barrière intestinale n'est pas infranchissable :

- la contamination per os est la plus importante dans la pathologie chlamydienne chez les animaux.

- les enquêtes sérologiques donnant des titres faibles en anticorps fixant le complément sont le signe d'une chlamydémie chez les animaux "porteurs sains".

- BUZONI (10) a réussi à provoquer des avortement chez la souris après administration parentérale et orale de Chlamydia d'origine ovine. L'auteur a comparé la pathogénicité de :

  .Chlamydia dites "intestinales", isolées de fécès d'ovins apparemment sains.

  .Chlamydia dites "abortives", isolées de contenus utérins expulsés lors d'avortements de brebis.

Inoculées par voie intrapéritonéale, les Chlamydia "intestinales" sont moins virulentes que les "abortives". Elles entraînent néanmoins une mortalité intrautérine notable et une létalité postnatale des souriceaux considérable. Les Chlamydia "abortives" provoquent, elles, d'emblée une mortalité très importante des foetus in utero.

Par voie orale, les Chlamydia "intestinales", ne provoquent pas d'avortements. En effet, les Chlamydia "intestinales" franchissent difficilement la barrière digestive, contrairement aux Chlamydia "abortives", et ont donc un caractère invasif beaucoup moins marqué : le placenta n'est pas colonisé, même après administration, par sonde gastrique, de 10^8 Chlamydia par souris.

Un stress nutritionnel (régime hypoprotéique) n'a pas réussi à augmenter l'infectiosité des Chlamydia "intestinales".

Dans le cas où les Chlamydia "intestinales" n'entraînent pas d'avortement per os, peuvent-elles, au contraire, prémunir contre celui-ci par l'immunité qu'elles confèrent ?

* La chlamydiose intestinale latente peut-elle protéger son hôte contre l'avortement ?

Nous avons déjà relaté l'expérience suivante : des Chlamydia, isolées de fécès de brebis gestantes apparemment saines, sont inoculées en intramusculaire à ces mêmes brebis. Celles-ci avortent ou ont des agneaux chétifs; les placentas sont infectés (90).

Ainsi, ces Chlamydia "intestinales" qui, dans les conditions naturelles n'étaient pas pathogènes, se révèlent expérimentalement aptes à provoquer un avortement. Mais elles n'ont pas procuré une immunité suffisante pour empêcher une surinfection des brebis hôtes.

La chlamydiose intestinale latente ne protège donc pas.

24. - MODES DE CONTAGION ET VOIES DE PENETRATION -

La contamination se fait de façon directe, contrairement aux Rickettsiales pour lesquelles un arthropode piqueur, vecteur de la maladie, est le plus souvent impliqué. Néanmoins, ROGUINSKY (82) souligne que la transmission par les tiques, bien que non démontrée, pourrait exister car des Chlamydia ont pu être décelées dans ces acariens.

La voie digestive est la plus importante et la plus fréquente. Néanmoins, BUZONI a noté, lors d'inoculation per os à des souris (expérience précédemment décrite), que les Chlamydia administrées à l'aide d'une sonde gastrique étaient plus pathogènes que celles distribuées au biberon. Les premières voies digestives représentent donc un obstacle à l'introduction des Chlamydia. La salive, les IgA des muqueuses, mais aussi l'acidité de l'estomac sont probablement toutes impliquées.

Les voies respiratoire et oculaire ont un rôle indiscutable.

De même, la transmission vénérienne est maintenant prouvée, par simple contamination passive lors de coïts successifs, mais aussi par l'intermédiaire du sperme contaminé.

La transmission transplacentaire durant plusieurs générations, entraînant une chlamydiose latente, a été décrite chez la souris blanche par GENEST (33). Cet auteur pense que les Chlamydia émigrent chez l'embryon, au tout début de son développement, alors que l'implantation du placenta n'est pas encore réalisée.

Une telle transmission, transplacentaire, non létale pour le foetus, a aussi été prouvée chez les Ruminants :

- STORZ (91) a sacrifié des agneaux nés vivants de mères chlamydiennes, et leurs autopsies ont révélé des Chlamydia.

La transmission transplacentaire létale est, elle, évidente puisque c'est la chlamydémie foetale associée avec la placentite, qui entraîne la mort du foetus.

Lequel de ces deux facteurs est prépondérant dans la survenue de l'avortement ? Nous allons essayer de le préciser en entamant un nouveau chapitre, celui de la pathogènie qui traite du déroulement de la maladie et de ses incidences lésionnelles et fonctionnelles.

III - PATHOGENIE -

Après la contamination orale qui, nous venons de la dire, est la plus fréquente, l'invasion de l'organisme par les Chlamydia se fait en trois étapes :

- passage de la barrière intestinale
- chlamydémies et colonisation de l'utérus
- lésions placentaires et foetales.

31 - PASSAGE DE LA BARRIERE INTESTINALE -

DOUGHRI et coll. (18) ont inoculé des veaux nouveaux-nés par voie orale (avec une souche isolée lors d'arthrite d'agneau) pour étudier le devenir des Chlamydia au niveau de l'intestin : les Chlamydia adsorbent la bordure en brosse des cellules épithéliales de l'intestin et sont ingérées par endocytose.

Elles se multiplient dans la région supranucléaire des entérocytes. Ceux-ci, par la suite dégènèrent et libèrent les Chlamydia dans la lumière intestinale mais aussi dans la tunique muqueuse sous-jacente. En effet, des oedèmes intercellulaires associés à la rupture du bord basal des entérocytes et de la membrane basale accolée permettent le libre passage des Chlamydia dans la lamina propria de la muqueuse. La colonisation des cellules présentes à ce niveau, dont les cellulès endothéliales du système lymphatique, aboutit à la libération des Chlamydia dans la circulation lymphatique. La chlamydémie s'instaure alors facilement.

Les lymphatiques intestinaux sont donc les portes d'entrée majeures des Chlamydia dans la circulation sanguine.

Des Chlamydia sont isolées au niveau de la caillette (contenu

et muqueuse), des portions basses de l'intestin, mais c'est surtout au niveau de l'iléon qu'elles sont abondantes.

STORZ et coll (102) attestent que la partie distale du jéjunum et l'iléon sont le plus constamment et le plus fortement infectés; ils précisent qu'il en est de même lors d'infections virales telles la gastro-entérite transmissible du porc, la leucopénie féline ou les diarrhées virales des bovins et expliquent que ces constatations similaires sont dues à la très grande richesse de l'iléon en tissus lymphatiques, comparé aux autres portions de l'intestin.

Bref, une fois dans le sang, les Chlamydia infectent les organes et s'y multiplient, entraînant ainsi une seconde chlamydémie c'est ce que nous allons développer plus largement grâce à une nouvelle expérience de STORZ.

32 - CHLAMYDEMIES ET COLONISATION DE L'UTERUS

STORZ et coll. (101) ont inoculé des brebis pleines (de 130 à 145 jours) ou vides, par voie intraveineuse, avec une souche de Chlamydia isolée sur rein d'agneau avorté.

Ils ont étudié la "clearance" sanguine, après l'inoculation grâce à :

- 10 prises de sang lors de 2 premières heures
- 1 prise de sang toutes les heures de la troisième à la huitième heure,
- 1 prise de sang toutes les 24 h. pendant 8 jours.

La dissémination des Chlamydia dans les organes, ainsi qu'au niveau de l'utérus, du placenta et du foetus, est recherchée chez 16 brebis dont 14 gestantes, sacrifiées à 8, 14, 18 et 24 heures puis tous les jours pendant une semaine.

L'infectiosité des prélèvements sanguins et des organes est testée par culture sur oeuf.

Les résultats sont les suivants :

- les Chlamydia, inoculées par voie intraveineuse, ne sont plus décelables dans le sang au bout de 2 heures, que ce soit chez les brebis pleines ou vides ; cette durée est bien sûr fonction du nombre de Chlamydia injectées au départ, mais dans tous les cas, la décroissance, la "clearance" est exponentielle.

La Chlamydémie initiale a donc duré 2 heures. Il faut remarquer que :

- en utilisant différents systèmes de culture sur tissu, divers auteurs ont trouvé que l'adsorption maximale des Chlamydia aux cellules était atteinte au bout de 2 heures (52).

- les phénomènes d'infection tissulaire et de phagocytose qui se produisent durant la "clearance" ne peuvent être séparés à partir de cette étude.

- cependant, des mesures du pouvoir infectieux non pas du sang total, mais seulement des leucocytes prouvent que ceux-ci ne renferment pas d'infectiosité supplémentaire. Les globules blancs ne semblent donc pas être préférentiellement colonisés par les Chlamydia.

Suite à cette première bactériémie, des Chlamydia peuvent de nouveau être isolées des prélèvements sanguins, à partir de la 24° heure; les taux sont alors très faibles, à la limite du décelable, ce pendant 3 jours, puis redeviennent nuls.

La quasi disparition puis le retour des Chlamydia dans le flux sanguin laisse sous-entendre à l'évidence qu'elles ont, entre temps, colonisé les organes et s'y sont multipliées.

Cependant, la mise en évidence de Chlamydia dans les organes des mères autopsiées ne débute que 24 heures après l'inoculation. La dilution extrême de l'inoculum dans l'organisme de la brebis pourrait expliquer cette constatation. Mais la raison majeure de cette carence est la technique utilisée pour la mise en évidence des Chlamydia, à savoir la culture sur oeuf : celle-ci détecte les corps élémentaires et pas les corps réticulés. Or, le cycle particulier des Chlamydia fait que celles-ci passent alternativement par ces deux étapes. Ainsi, dans l'expérience décrite, les corps infectieux colonisent les organes, se transforment en corps réticulés non décelables, qui ne se différencient en corps infectieux décelables que 20 heures après (cf. Chapitre II).

Cette explication permet également de comprendre que, par la suite, tous les organes étudiés (poumons, foie, rein, rate, noeuds lympathiques) semblent contenir des Chlamydia, de façon discontinue. Ainsi les brebis sacrifiées 48, 72, 120,168 et 192 heures après l'inoculation révèlent des Chlamydia, contrairement à celles autopsiées à 96, 144, 168 et 192 heures.

Cette infection systèmique semble transitoire et doit exister, dans les conditions naturelles seulement au début de la maladie : PARKER et YOUNG (62) n'ont pu mettre en évidence de Chlamydia dans les organes de brebis au moment de leur avortement.

La seconde chlamydémie, celle détectée entre 1 et 3 jours, a pû être supprimée grâce à un traitement soutenu à la Pénicilline : 300.000 U I en intramusculaire 2 heures après l'inoculation puis tous les jours pendant une semaine chez 5 des 6 brebis traitées. Mais sur ces 5, 4 abritaient des Chlamydia au niveau du placenta et du foetus.

Ainsi, la première chlamydémie de 2 heures seulement, a permis la colonisation de la sphère génitale.

Chez les brebis autopsiées, l'infection placentaire est mise en évidence 48 heures après l'inoculation: 6 placentômes (ou cotylédons) de chaque placenta sont mis en culture; ils ne sont pas obligatoirement tous infectés, et jamais dans les mêmes proportions.

L'infection du foetus est décalée de 24 heures.

Finalement, il se dégage que :

- suite à la contamination placentaire, l'évolution de l'infection purement intrautérine semble totalement dissociée de l'infection maternelle qui va, elle, s'estomper.

- la très courte phase de chlamydémie suffisante à entraîner l'avortement, explique les problèmes rencontrés quant à l'efficacité des vaccinations et des traitements.

Etudions maintenant, plus en détail, quelles sont les atteintes placentaires et foetales ?

33 - LESIONS PLACENTAIRES ET FOETALES

Des études macroscopiques et microscopiques ont été réalisées sur des placentas de brebis avant, pendant, et après avortement chlamydien. Encore une fois, la chèvre a été délaissée; ce n'est pas très important car chèvres et brebis ont même placentation, de type syndesmochroriale, du moins pour la plupart des auteurs (47); d'autres attribuent néanmoins à la chèvre une placentation épithéliochoriale.

Nous devons, en tout cas, nous satisfaire de cette étude très approfondie de STUDDERT (104) sur la colonisation par les Chlamydia de placentas et de foetus de brebis.

Auparavant, l'auteur a étudié le placenta et son évolution à l'état normal :

- chez les ruminants domestiques les villosités choriales du placenta se réunissent en cotylédons, après un stade à l'état diffus; ces villosités sont étroitement imbriquées dans les cryptes des caroncules endométriales.

- l'ensemble caroncule - cotylédon est appelé placentome, la zone intercotylédonnaire est aussi nommée interplacentome.

- les villosités des caroncules, entourant les cryptes, constituent le septum utérin; elles sont composées de tissus maternels hautement vascularisés, à la surface desquels l'épithélium utérin est remplacé par un syncitium. La placentation est donc syndesmochoriale au niveau des placentomes. La syncitium utérin est formé à partir de cellules géantes du trophoblaste qui fusionnent après avoir digéré l'épithélium utérin.

- le chorion, c'est-à-dire la couche la plus externe du placenta foetal, garde lui son épithélium.

L'épithélium chorionique est formé de cellules du trophoblaste et du cytotrophoblaste.

- vers le 60° jour de gestation, des hématomes apparaissent à la base de certaines villosités choriales, dans la région dite des "arcades", du fait de la richesse et de la juxtaposition très intime de nombreux vaisseaux, tant maternels que foetaux. Ces lacunes sanguines, situées dans la partie foetale du placenta, sont limitées par de l'épithélium chorionique. Cependant, le sang qui s'écoule dans ces lacunes semble d'origine maternelle.

L'étude macrospique du placenta après infection chlamydienne, montre que les lésions siègent principalement au niveau des membranes foetales :

- elles sont oedématiées, souvent hémorragiques, avec de vastes masses d'exsudat adhérant à la surface choriale.

- sous cet exsudat, surtout au niveau des placentomes, on note une nécrose étendue de l'épithélium chorial avec décoloration brunâtre.

- les aires de placentite (après euthanasie d'une brebis, permettant le respect des relations topographiques au niveau du placenta) sont de 20 cm de diamètre, de forme irrégulière, semblant centrées sur des placentômes.

- la partie maternelle du placenta, c'est-à-dire le syncitium endométrial, est modérèment affectée : légère décoloration et peut être début de nécrose.

L'étude microscopique révèle que :

- les lésions, au niveau du placentôme sont centrées sur l'épithélium chorionique, surtout celui qui entoure les lacunes sanguines.

- les cellules de cet épithélium sont infectées et beaucoup d'entre elles sont éliminées dans les lacunes.

- la destruction souvent massive de l'épithélium chorionique entraîne la souffrance de la membrane basale accolée, la congestion des capillaires fétaux sous-jacents avec extravasation de cellules inflammatoires.

- finalement, la destruction de la membrane basale permet la libre entrée des contenus lacunaux (cellules de l'épithélium chorionique, nombreux corps élémentaires chlamydiens, globules rouges lysés et exsudat inflammatoire très abondant)dans les cavités amniotique ou allantoïdienne.

Tous ces éléments mélangés constitueront la "crême de marrons" brun rougeâtre, rencontrée dans la plupart des avortements chlamydiens.

- dans les régions non lacunaires, l'épithélium chorionique est beaucoup plus rarement et faiblement infecté.

- les cellules du septum et du syncitium maternels apparaissent ne pas être infectées ou sujettes à toute lésion primaire de la part des Chlamydia.

- la répartition des quelques lésions existant, au niveau de l'interplacentôme, indique qu'elles proviennent directement de l'extension des lésions primaires, à partir des lacunes.

Toutes ces lésions, siègeant dans le placenta sont accompagnées de modifications, essentiellement microscopiques, au niveau du foetus :

- la distribution des lésions foetales (foyers d'hyperplasie réticuloendothéliale, accompagnées d'infiltration de polynucléaire et de nécrose parenchymateuse) principalement au niveau du foie, des poumons, des reins et du coeur, suggère que les Chlamydia pénètrent dans la circulation fétale, vraisemblablement via les vaisseaux sanguins chorioniques et accèdent aux tissus foetaux à travers l'endothélium vasculaire.

Toutes ces observations, riches et variées, permettent d'élaborer des hypothèses solides quant à la pathogènie proprement dite de l'avortement chlamydien :

- les Chlamydia atteignent le placenta via le flot sanguin et colonisent donc d'abord l'épithélium chorionique bordant les lacunes des placentomes.

- la distribution des lésions placentaires et le moment de l'avortement semblent indiquer que les Chlamydia atteignent l'épithélium chorionique vers la moitié de la gestation, époque coïncidant avec le développement des lacunes.

- il est probable que les Chlamydia pénètrent dans le cytoplasme des cellules de l'épithélium par pinocytose et y trouvent les conditions favorables à leur multiplication.

- par croissance contigüe ou un transport par fluide, les Chlamydia se répandent dans tout l'espace utéro-chorial.

- une fois l'épithélium chorionique et sa membrane basale lésés, les Chlamydia atteignent le mésenchyme foetal et peuvent éventuellement pénétrer la circulation foetale et coloniser tel ou tel organe.

Mais, dans tous les cas, la placentite est très importante lors d'infection chlamydienne et est sans aucun doute primordiale dans le déclenchement de l'avortement. La mort foetale est d'ailleurs toujours secondaire à cette placentite. Même si une septicémie foétale existe, les lésions sont trop peu importantes pour entraîner la mort du foetus et qui plus est l'avortement.

La placentite est donc responsable de l'avortement, mais ce à divers titres :

- en réduisant les échanges entre la mère et son foetus.
- en modifiant le contexte hormonal de la gestation.
- en révélant le caractère allogénique du foetus à sa mère.

33.1 - Perturbation des échanges

Les importantes lésions placentaires ainsi que l'exsudat sanguino purulent qui envahit l'espace utéro-chorial, perturbent les échanges physiologiques entre la mère et son foetus et sont aptes à provoquer la mort de ce dernier.

33.2 - Production hormonale modifiée

Cette étiologie hormonale de l'avortement résulte du fait que

la progestérone est indispensable au maintien de la gestation.

Chez la chèvre, contrairement à la brebis, la production de progestérone n'est pas assurée par le placenta, mais uniquement par les corps jaunes (106). Ceux-ci sont donc indispensables pendant toute la gestation et une placentite n'entraîne pas, du moins directement, une diminution du taux de progestérone.

Mais le placenta secrète de nombreuses autres hormones, et en particulier, dans les 90 derniers jours de gestation de la chèvre, la PL (Placental Lactogen).

Cette PL placentaire (106) a, avec la LH hypophysaire, un rôle lutéotrophique et sa synthèse est donc primordiale chez la chèvre.

- or des avortements chlamydiens, provoqués chez la brebis par BOSC et coll. (7) ont montré que des lésions placentaires provoquent une baisse de production très nette de la P.L.

- de plus, ces auteurs estiment que les souffrances cellulaires subies par le placenta infecté, sont aptes à provoquer la libération de PGF 2α , hormone placentaire mais elle lutéolytique.

- la diminution de PL et la synthèse de PGF 2α , favorisant toutes deux la lyse des corps jaunes, entraînent une chute du taux de progestérone, suffisante pour induire l'avortement.

33.3 - Rejet immunologique

Il faut d'abord bien réaliser le paradoxe immunologique que constitue toute gestation : celui de l'acceptation par la mère de la greffe semi-allogénique que représente son foetus, dont la moitié des gènes proviennent du père.

De même, il est difficile d'expliquer la présence de sang maternel dans les lacunes fétales. Ceci n'est possible que si ces deux secteurs sont séparés immunologiquement, afin d'éviter tout rejet. Diverses hypothèses sont avancées pour matérialiser cette séparation; elle sera représentée par :

- une fine couche mucoprotéinique qui tapisserait l'épithélium chorionique de ces lacunes

- la membrane basale sous épithéliale

- mais surtout l'épithélium chorionique de par son origine trophosblastique; en effet, il est maintenu reconnu que c'est grâce au trophoblaste, tissu embryonnaire non antigènique, que la greffe semi-allogénique que constitue le foetus n'est pas rejetée.

Quelque soit la barrière existante, elle est détruite par les Chlamydia lors de l'infection placentaire et une composante immunologique doit être envisagée dans l'avortement chlamydien.

IV - DIAGNOSTIC -

Les symptômes sont presque inexistants avant l'avortement, peu spécifiques après (Cf paragraphe 24 du chapitre suivant). De ce fait, le diagnostic clinique repose principalement sur l'étude des commémoratifs.

Le diagnostic expérimental reste donc prépondérant. Il a deux buts distincts et complémentaires :

- soit mettre directement en évidence le germe soupçonné : on parle alors de diagnostic direct.
- soit mettre en évidence l'existance de réactions immunologiques chez l'animal et prouver ainsi son contact avec le germe incriminé : ceci constitue le diagnoctic indirect.

Nous aborderons en premier le diagnostic expérimental indirect, non sans avoir rappelé quelques notions générales sur l'immunité.

41 - RAPPELS sur l'IMMUNITE

41.1 - Définition

L'immunité d'un individu représente son état de résistance face à l'infection d'organismes étrangers pathogènes.

42.2 - Classification

L'immunité peut être naturelle ou acquise.

L'immunité naturelle est la protection, l'insensibilité, innées d'un individu à telle ou telle maladie.

Par exemple, les poissons ne sont pas affectés par la chlamydiose; l'homme est insensible à la maladie de Carré.

L'immunité acquise, à l'opposé, apparaîtra au cours de la vie de l'individu suite au phénomène d'immunisation.

L'immunisation est donc l'obtention de la résistance à tel ou tel germe pathogène. Elle peut être, selon son origine :

- active ou passive
- spontanée ou expérimentale.

Le tableau suivant illustre ces définitions en donnant des exemples concrets.

Exemples d'immunisations possibles

	active	passive
spontanée	suite à une infection	suite à la tétée de colostrum
expérimentale	Suite à la vaccination	suite à la sérumisation.

41.3 - Mécanismes d'action

Cette protection immunologique, qu'elle soit naturelle ou acquise, repose d'un point de vue physiologique sur deux mécanismes de défense distincts : l'un sérique, l'autre cellulaire. C'est pourquoi l'on parle d' :

- immunité à médiation humorale
- immunité à médiation cellulaire.

a/.- L'immunité à médiation humorale

Elle fait intervenir des molécules complexe sériques appelées anticorps ou immunoglobulines, de trois ordres :

- les anticorps neutralisants, qui ont la propriété de se combiner spécifiquement à l'antigène homologue (en l'occurence toxine ou virus) pour lui faire perdre son activité biologiques.

- les anticorps opsonisants, qui ont la propriété de faciliter la phagocytose des bactéries.

- les anticorps sensibilisants ou lytiques, qui ont la propriété de lyser les éléments cellulaires ou microbiens mis à leur contact, ce en présence de complément.

Ces anticorps, spécifiques d'un antigène donné, sont secrétés par des lymphocytes B "sensibilisés" ou plasmocytes.

b/.- L'immunité à médiation cellulaire

Elle, met en oeuvre des éléments figurés :

- les lymphocytes T, non sensibilisés
- les lymphocytes T effecteurs ou "killers" qui agressent directement le germe vis-à-vis duquel ils ont été sensibilisés.
- les lymphocytes T "mémoire" qui, lors d'un nouveau contact avec l'antigène se transforment en lymphoblastes : leur cytoplasme et leur noyau augmentent de volume et les synthèses protéiques sont accrues.
- les lymphoblastes alors formés, peuvent se multiplier et revenir à l'état de lymphocytes T "mémoire" mais surtout effecteurs, d'où une prolifération de ces lymphocytes qui entraîne une résistance accrue lors de l'introduction d'un antigène.
- les macrophages.

Tous ces éléments interagissent entre eux, mais également avec les lymphocytes B et les plasmocytes déjà cités.

Les lymphocytes T interviennent par leur cytotoxicité, leur faculté de faciliter la transformation des lymphocytes B en plasmocytes, la secrétion de substances telles que les lymphokines et le MIF qui inhibe la migration des macrophages, focalisant et intensifiant ainsi leur action.

Les macrophages ont un rôle dans la phagocytose des antigènes et dans l'information des lymphocytes lors de leur premier contact avec l'antigène.

42 - APPLICATION AU DIAGNOSTIC EXPERIMENTAL INDIRECT

Son but, nous le rappelons, est de mettre en évidence l'existence de réactions immunologiques chez l'animal et prouver ainsi son contact avec le germe incriminé.

Les deux types de réponses immunitaires précédemment décrites, à savoir humorale et cellulaire, peuvent être recherchées.

42.1 - Mise en évidence de la réaction humorale

Elle consiste à détecter les anticorps présents dans le sérum de l'animal malade.

Cette recherche, effectuée au laboratoire, constitue le diagnostic sérologique.

La microagglutination sur lame (36), délaissée car trop subjective et trop longue et l'inhibition de l'hémagglutination (27), peu usitée car nécessitant des hématies d'oie de 1 à 7 jours, ont laissé une place prédominante à la technique de fixation du complément et à l'immunofluorescence indirecte.

a/.- La réaction de fixation du complément

Cette technique bien connue car utilisée dans le diagnostic indirect de nombreuses maladies infectieuses, est décrite dans le paragraphe 18 du chapitre suivant. En effet, c'est elle qui permettra le suivi sérologique des chèvres inoculées expérimentalement par nos soins.

La méthode opératoire fort simple mise en oeuvre dans le cas de la chlamydiose n'a rien de spécifique.

Quelques remarques et critiques permettront de nuancer l'intérêt de cette technique.

La réaction de fixation du complément détecte les anticorps dirigés contre l'antigène de groupe commun à tous les membres du genre Chlamydia. Elle n'est donc aucunement spécifique de la chlamydiose abortive.

D'ailleurs, nous avons déjà vu que la chlamydiose intestinale latente peut entraîner la formation d'anticorps sériques fixant le complément. Pour le diagnostic de la chlamydiose abortive proprement dite, des seuils doivent donc être définis. Le diagnostic sera :

- négatif si le titre est inférieur ou égal à 1/20
- douteux si le titre est de 1/40
- positif si le titre est supérieur ou égal à 1/80

(1/20, 1/40 , 1/80 représentent la dernière dilution du sérum positive au test).

De plus, la fixation du complément ne révèle que les immunoglobulines G_1 et G_3 et quelque peu les Ig M.

Nous avons déjà dénoncé le danger patent de chèvres à sérologie négative :

- au moment de leur avortement (48) (29)
- quelques mois avant leur avortement (74).

L'absence d'anticorps n'est donc absolument pas significative. Seule une étude du troupeau, ou au moins d'un groupe représentatif, permet d'élaborer un diagnostic non erroné.

Dans le cas d'un diagnostic post-abortif, les prélèvements sanguins doivent intéresser des chèvres non gravides, des mères gestantes, des mères ayant mis-bas et des mâles, en sus de la seule femelle avortée. Ces prises de sang effectuées à un moment quelconque de la gestation seront aussi intéressantes, nous le verrons dans l'étude expérimentale, que celles effectuées après l'avortement, pour la bonne raison que la cinétique sérologique n'est pas fonction de ce dernier. Pour la même raison, il n'est pas nécessaire d'attendre 10 ou 15 jours après l'avortement une éventuelle montée des anticorps pour pratiquer la prise de sang.

b/.- L'immunoflurescence indirecte

Cette réaction nécessite, outre le sérum de l'animal soupçonné contenant ou non des anticorps anti Chlamydia :

- des Chlamydia vivantes, qui seront fixées à l'acétone froid (- 20° C) sur une lame microscopique; constituant l'antigène, elles fixeront les anticorps anti-Chlamydia présents.
- des anticorps dirigés contre l'animal étudié (par exemple anticorps de lapin anti-chèvre) marqués par de l'isothiocyanate de fluorescéine.

Après fixation des Chlamydia, on dépose le sérum à tester sur la lame. On lave pour éliminer les anticorps anti-Chlamydia non fixés. On ajoute le sérum de lapin contenant les anti corps marqués. On lave pour éliminer tous les anticorps anti-chèvres non fixés.

La mise en évidence d'une fluorescence, sous microscope à ultraviolets, prouve la présence d'anticorps anti-Chlamydia dans le sérum étudié.

La lecture des résultats est plus fatigante que dans le cas de la fixation du complément; des Chlamydia maintenues vivantes par culture ainsi qu'un microscope à ultraviolets sont indispensables.

Cette technique est donc plus lourde et plus coûteuse que la fixation du complément. Comme leur sensibilité est équivalente (32), l'immunofluorescence indirecte est plus rarement utilisée en médecine vétérinaire.

Enfin, les remarques et critiques émises envers la fixation du complément visent de la même manière l'immunofluorescence indirecte car les anticorps détectés, Ig G et Ig M, sont les mêmes (32).

Il est maintenant bien établi que les anticorps sériques anti Chlamydia attestent uniquement d'un contact antérieur entre l'animal et le germe, mais ne procurent aucunement une immunité suffisante en cas de réinfection.

La raison en est la particularité des Chlamydia, à savoir leur cycle intracellulaire obligatoire.

L'étude des virus a révélé que, dans ce cas, c'était l'immunité à médiation cellulaire qui avait un rôle primordial; d'où la nécessité d'étudier les mécanismes immunitaires dans la chlamydiose, et l'importance de rechercher l'immunité à médiation cellulaire, en vue du :

- diagnostic de l'infection (contact antérieur mis en évidence par l'existence de réactions immunologiques, comme dans

le cas de la fixation du complément).

- diagnostic de l'immunité (mise en évidence d'éléments cellulaires aptes à empêcher une réinfection).

42.2 - Mise en évidence de la réaction cellulaire

Nous décrirons une méthode directement utilisable sur le terrain l'intradermo-réaction des animaux soupçonnés, puis deux méthodes de laboratoire plus complexes : le test de transformation lymphoblastique et le MIF test.

a/.- L'intra-dermoréaction.

Cette technique, qui constitue le diagnostic allergique, sollicite l'hypersensibilité retardée, spécifique de l'immunité à médiation cellulaire.

La réaction allergique est beaucoup plus développée chez les caprins que chez les ovins ; sa lecture en est plus facile du fait de l'absence de laine : voilà qui devrait aider à l'essor de cette technique. D'autant plus que RODOLAKIS (77) avance que l'intradermo réaction (ID) est plus sensible que la fixation du complément (FC) :

118 chèvres sont inoculées, par voie intradermique au niveau de l'encolure, l'allergène est préparée à l'aide de 100 microgrammes de Chlamydia entières; les résultats de la lecture, effectuée 72 h, après inoculation, sont comparées à ceux de la méthode sérologique :

- 45 chèvres sont positives en ID contre 25 en FC;
- 30 chèvres ont des réponses douteuses en FC contre 16 seulement en ID.
- Ces 30 réponses douteuses en FC ont pu être précisées par l'ID :

7 étaient négatives
5 douteuses
18 positives.

- Parmi les 16 réponses douteuses en ID, seules 4 sont positives en FC.

b/.- Le test de transformation lymphoblastique

Cette technique calcule, après prise de sang sur l'individu incriminé, la proportion de ses lymphocytes qui, au contact d'un antigène donné, se transforment en lymphoblastes. Ces lymphoblastes se multiplient et donnent à leur tour des lymphocytes, entraînant ainsi une prolifération lymphocytaire quantifiable microscopiquement ou biochimiquement par l'incorporation de thymidine tritiée (15).

Un taux nul de transformation lymphoblastique indique l'absence de contact antérieur entre l'individu et l'antigène utilisé.

Plus ce taux est élevé, plus les lymphocytes sont aptes à réagir avec cet antigène si un nouveau contact se produit et, par là même, plus l'individu est protégé contre une réinfection.

On établit ainsi un pronostic (en fonction de l'immunité acquise) mais aussi un diagnostic en prouvant ou non le contact infectieux antérieur.

c/.- Le MIF test

Cette méthode étudie la production de MIF (Migration Inhibiting Factor) par les lymphocytes T sensibilisés.

Ce facteur, comme son nom l'indique, empêche la migration des macrophages.

La synthèse de MIF, après mise en contact des lymphocytes T avec un antigène donné, sera donc quantifiée indirectement par la mesure de la migration des macrophages hors d'un tube capillaire (28).

Plus les lymphocytes T sensibilisés à l'antigène incriminé seront nombreux dans le prélèvement sanguin, moins les macrophages seront mobiles.

43 - RECOURS AU DIAGNOSTIC EXPERIMENTAL DIRECT

La mise en évidence directe d'un germe, à partir de prélèvements effectués sur un animal malade, est la meilleure preuve de son intervention pathogène.

La recherche d'un germe utilise :

- des techniques qui nécessitent la culture de ce germe, donc sa virulence, pour aboutir à son isolement.
- des techniques qui identifient le germe mort ou même à l'état de débris

*Les premières citées mettent en oeuvre les cultures :

- in vivo et in ovo, avec isolement puis visualisation des germes sous microscope.
- in vitro, avec mise en évidence des Chlamydia :

  .soit à l'oeil nu, selon la technique des plages de lyse

  .soit sous microscope à ultraviolets après coloration à l'acridine orange.

Les prélèvements de choix, en vue de culture, sont :

- les écouvillons vaginaux
- les broyats d'organes foetaux
- les broyats de cotylédons
- le contenu stomacal du foetus.

*Les techniques qui identifient le germe, même mort, sont :

- le test immunologique ELISA, interprétable à l'oeil nu, qui peut s'appliquer à tous les prélèvements précités.

- les colorations sur lame suivies d'une lecture au microscope. Des calques d'organes foetaux ou de cotylédons suffisent alors.

L'on voit que seules deux techniques ne requièrent pas l'utilisation du microscope, fatiguante à la longue, la technique des plages de lyse et le test ELISA. Ce sont justement les deux techniques appelées à se développer :

- la lecture en est aisée
- elles sont très spécifiques
- le comptage des plages de lyse permet de quantifier les Chlamydia vivantes présentes dans l'inoculum.
- la technique ELISA révèle les Chlamydia, même détruites et n'est guère perturbée par les contaminations existant dans les prélèvements.

Pour en revenir plus précisément aux prélèvements, ils ne doivent pas, dans une maladie abortive comme la chlamydiose, intéresser seulement la mère malade, mais également le ou les foetus, ainsi que les mâles :

- chez la mère, des écouvillons vaginaux, recueillant exsudats et lochies, doivent être effectuées dans les 3 jours suivant l'avortement. Les placentas seront utilisés s'ils sont retrouvés et pas trop contaminés. Le lait et les fécès ne sont pas analysés dans la pratique courante. Notre expérimentation ne permettra pas, d'ailleurs, d'isoler des Chlamydia de ces prélèvements.

- chez le foetus, le foie, les poumons, la rate, les liquides pleuraux ou péritonéaux peuvent être utilisés; mais le contenu stomacal reste le prélèvement de choix (70).

- chez le mâle, le sperme peut être vecteur de Chlamydia, comme nous l'avons déjà dit.

Dans les conditions pratiques, retenons qu'il faut envoyer au laboratoire, dans les meilleurs délais :

- un écouvillon vaginal, effectué stérilement le plus tôt après l'avortement
- l'avorton en entier
- le placenta ou trois calques de cotylédons effectués avec une lame de microscope puis fixés par la chaleur.

Une prise de sang et tous les commémoratifs nécessaires seront joints à cet envoi qui, nous le constatons, est identique à celui effectué dans la recherche de brucellose.

Le port des gants est indispensable lors de tout prélèvement.

43.1 - Mise en évidence du germe vivant

La culture des Chlamydia ne peut pas s'effectuer sur des milieux inertes, contrairement à la bactériologie courante. Les techniques se rapprochent des cultures virales, à savoir in ovo, sur animal de laboratoire ou sur culture de cellules.

Ces trois milieux de culture très riches sont favorables à la multiplication des Chlamydia mais aussi des contaminants: bactéries, champignons, virus. Il faudra donc effectuer les prélèvements le plus stérilement possible.

a/. Culture sur animal de laboratoire

L'inoculation d'animaux indemnes, avec Chlamydia psittaci entraîne l'apparition de symptômes spécifiques :

- la voie intranasale chez la souris induit une pneumonie caractéristique et quelques fois la mort en 3 à 7 jours (68).

- la voie intrapéritonéale entraîne chez les cobayes, considérés par certains comme hôtes de choix, une forte fièvre puis tuphos et cachexie.

La péritonite est suivie de la mort entre 7 et 14 jours (94).

- la voie intrapéritonéale également, mais chez les souris gestantes, a été utilisée par RODOLAKIS (69) :

  .la souche AB 7 (souche de Chlamydia ovis isolée par FAYE lors d'un avortement de brebis) entraîne uniquement une infection inapparente, si elle a été entretenue sur oeuf par de nombreux passages qui ont atténué sa virulence.

  .par contre cette même souche, après un passage sur souris et un réisolement sur oeuf déclenche :

    - soit une forte hémorragie génitale parfois mortelle, si elle est inoculée en début de gestation.

    - soit l'avortement après 4 à 6 jours, avec ou non mort de la mère 1 ou 2 jours après, si elle est inoculée entre 12 et 16 jours de gestation.

Cette culture in vivo, ainsi que la culture in ovo, constitue plus une étape d'isolement du germe permettant ensuite sa recherche au microscope, qu'une étape finale confirmant le diagnostic de chlamydiose car les symptômes provoqués ne sont pas assez probants. D'autant plus que des chlamydioses

naturelles latentes ont été mise en évidence chez les animaux de laboratoire.

b/. Culture in ovo

Des oeufs embryonnés de 5 à 8 jours et indemnes de virus sont nécessaires.

L'inoculum chlamydien, injecté dans le sac vitellin va entraîner la mort de l'embryon, visualisée grâce à deux mirages quotidiens, dans un délai de 14 jours.

Les oeufs embryonnés morts avant 5 jours ne sont pas retenus cas ils sont le plus souvent contaminés et/ou n'ont pas permis une multiplication suffisante des Chlamydia.

Pour les autres, aussitôt après la mort de l'embryon, la membrane vitelline est prélevée stérilement, broyée dans 5 volumes d'eau physiologique en présence de sable de Fontainebleau. Une centrifugation à 1000 t/mn pendant 20 mn permet d'éliminer le sable et la couche lipidique. La suspension finale peut alors être observée au microscope après étalement et coloration.

Cet isolement de Chlamydia confirme la suspicion que suscitent la mort de l'embryon et les lésions particulières observées à l'ouverture de l'oeuf :

- la membrane vitelline est très vascularisée, les villosités trophoblastiques sont réduites; le jaune d'oeuf est plus brillant et plus liquide qu'à l'ordinaire.

- les pattes de l'embryon sont cyanosées et sa peau tâchée de pétéchies.

c/.- Culture sur cellules

c_1/. technique des plages de lyse (76)

Son protocole est décrit exhaustivement dans le paragraphe

12 du chapitre suivant.

Les nombreux avantages déjà mentionnés s'accompagnent aussi de quelques inconvénients :

- nécessité d'entretien d'une culture cellulaire.

- conditions de prélèvement et de culture des Chlamydia quasi aseptiques : salle stérile, lampes ultra-violettes, bec Bunsen...

- diagnostic obtenu au bout de deux semaines seulement.

c_2/. Fluorescence à l'acridine orange.

Le principe de cette technique est, nous l'avons déjà souligné, la coloration différente que prennent sous un miscroscope à ultra-violets les corps réticulés (riches en ARN, donc oranges) et les corps élémentaires (où l'ADN est prépondérant et va colorer la vacuole intracytoplasmique en vert), en présence d'acridine.

Les Chlamydia sont mises en culture sur des lamelles de verre tapissées d'une couche monocellulaire, au fond de petits tubes qui contiennent un milieu nutritif adéquat. Ces lamelles seront extraites des tubes et colorées :

- 48 h. après mise en culture pour visualiser les corps réticulés.

- 24 h. plus tard pour les corps élémentaires.

Ces derniers, colorés en vert, sont plus difficiles à voir car le noyau de la cellule infectée est également vert.

On remarque que le diagnostic est porté en 3 jours seulement.

La technique de coloration est la suivante :

- fixation avec le mélange éthanol - acide acétique (2/1) pendant 5 mn.

- 2 lavages consécutifs avec le mélange acide acétique - tampon phosphate PBS (cf. annexe 1, paragraphe 12 du chapitre suivant).

- coloration à l'acridine orange 0,01 % dans du tampon phosphate pendant 4 mn.

- 2 lavages consécutifs de 2 mn avec du tampon phosphate.

Cette technique est rapide et assez simple. Néanmoins, la lecture sous microscope à ultra-violets est rapidement éprouvante.

43.2 Mise en évidence du germe même mort

La sensibilité élevée des cultures de cellules aux contaminants et la difficulté de survie des Chlamydia hors des cellules vivantes accroissent l'intérêt des techniques de diagnostic qui sont efficaces même si le germe est inerte (colorations) ou, qui plus est, en débris (test ELISA).

Un autre avantage est la rapidité de diagnostic de ces techniques puisqu'elles ne nécessitent pas la mise en culture des Chlamydia.

a/.- Technique ELISA

Ce test est très spécifique car immunologique.

Les Chlamydia ou leurs débris, présentes dans le prélèvement, représentent l'antigène; elles sont fixées sur un support.

Est rajouté un sérum ovin, contenant des anticorps anti-Chlamydia, puis après lavage, des globulines anti-mouton, marquées par un enzyme. Ces globulines se fixent aux anticorps ovins ayant formé des complexes immuns avec les Chlamydia présentes.

La mesure de l'activité enzymatique présente en fin de manipulation permet une appréciation quantitative du nombre des Chlamydia existant dans le prélèvement.

Plus simplement, l'ajout d'un agent chromogène réagissant avec l'enzyme utilisé (la peroxydase, par exemple) révèle par simple lecture à l'oeil nu, la présence ou non de Chlamydia.

b/.- Colorations

L'alcooloacido résistance des Chlamydia permet d'utiliser les colorations de MACCHIAVELLO ou de STAMP. Pour notre part, dans l'expérimentation nous avons modifié la coloration de STAMP en remplaçant le bleu de méthylène par du vert malachite (cf. paragraphe 19 du chapitre suivant).

V - TRAITEMENT -

Le traitement post abortif est particulier en ce sens qu'il ne vise par seulement à soigner la femelle qui vient d'avorter, mais aussi et surtout à empêcher les autres d'en faire de même.

Il ne faut cependant pas le confondre avec l'antibioprévention que nous développerons par la suite (cf. paragraphe 62.1) et qui est entreprise dans un troupeau sain, dès le troisième mois de gestation.

Le traitement, lui, est instauré beaucoup plus tardivement, car déclenché suite à la constatation de quelques avortements successifs, donc souvent dans les dernières semaines de la gestation.

Si Chlamydia psittaci est insensible aux sulfamides, elle ne résiste pas à des antibiotiques comme la Tétracycline, le Chloramphénicol, la Pénicilline ou la Rifampicine (cf. chapitre II).

Mais ces antibiotiques doivent, pour être actifs lors d'avortements, pénétrer facilement la sphère génitale; ce qui n'est guère le cas de la Pénicilline.

La Tétracycline et le Chloramphénicol, de part leur fort coefficient de pénétration cellulaire sont les antibiotiques de choix dans le traitement de la chlamydiose.

L'épidémiologie nous a déjà relaté leur efficacité : dans certains cas, ils diminuent le nombre des avortements (53) (87), et le pourcentage d'animaux sérologiquement positifs (87), mais dans d'autres, ils se révèlent inefficaces (29). YALCIN et GANE (112) affirment que la Tétracycline est nettement plus efficace si elle est associée au Chloramphénicol.

Nous avons déjà souligné que l'emploi d'antibiotiques peut conduire, non à une stérilisation microbienne, mais à une latence de la maladie (cf. paragraphe 23.6.b).

Ces observations sur le terrain sont certes peu rigoureuses scientifiquement ; des conditions expérimentales permettent plus objectivement de tester l'efficacité d'un traitement :

RODOLAKIS et coll. (80) inoculent par voie intradermique 6.10^6 Chlamydia à des brebis pleines de 80 jours. Ensuite, une cycline, la Terramycine Longue Action (N.D.) est administrée à la dose de 20 mg/kg :

* une seule injection pratiquée 4 semaines après l'inoculation, c'est-à-dire au 105° jour de gestation, est inefficace.

* deux injections, à 10 ou 15 jours d'intervalle, environ 1 mois après l'inoculation virulente, donnent des résultats appréciables, en comparaison avec un lot de brebis non traitées :

  - elles diminuent le nombre des avortements,

  - plus d'agneaux naissent, mais leur poids moyen n'est pas significativement supérieur à celui des agneaux nés de mères non soignées,

  - mais toutes les mères excrètent des Chlamydia.

En effet, la seconde et dernière injection de Terramycine est trop éloignée du terme pour stopper la multiplication chlamydienne jusqu'à la mise bas. Mais les auteurs pensent que plusieurs traitements répétés pourraient supprimer l'infection, donc l'excrétion, comme cela est le cas en médecine humaine lors des maladies génitales dues à Chlamydia trachomatis.

En pratique vétérinaire, une thérapeutique prolongée ne peut être envisagée économiquement; elle est d'ailleurs commencée très près du terme, comme nous l'avons déjà dit, et son efficacité ainsi que sa durée, en sont réduites d'autant.

VI - PROPHYLAXIE -

La prophylaxie regroupe l'ensemble des méthodes aptes à empêcher la survenue d'une maladie :

- soit en évitant le contact du germe et de l'animal : c'est la prophylaxie sanitaire
- soit en renforçant la résistance de l'animal à ce germe: c'est la prophylaxie médicale.

61 - PROPHYLAXIE SANITAIRE

Dans le cas de la chlamydiose abortive, la prophylaxie sanitaire repose :

- en milieu sain sur des mesures défensives qui visent à empêcher la survenue d'un vague abortive
- en milieu infecté, sur des mesures offensives qui, appliquées dès le premier avortement, doivent éviter toute contagion.

61.1 - Mesures défensives

La survenue des avortements est la plus souvent consécutive à l'introduction d'animaux dans un troupeau. Il faut préalablement connaître parfaitement l'état sanitaire du cheptel donneur, mais aussi celui de chaque animal acheté, mâle ou femelle. L'état sanitaire individuel doit être apprécié :

- objectivement, par mise en évidence de l'immunité à médiation cellulaire, seule valable (cf paragraphe 42.2)
- subjectivement, par l'analyse des antécédents de l'animal: a-t-il déjà avorté, a-t-il été ou non en contact avec des avortements ?

En se rapportant aux données d'épidémiologie et à l'expérimentation suivante, on pourra apprécier l'état d'immunité de l'animal en fonction de son passé :

RODOLAKIS et SOURIAU (79) comparent chez des brebis gestantes l'immunité que confèrent :

- une primoinfection par inoculation intraveineuse
- une primoinfection naturelle par contact avec des brebis contaminées.

L'immunité acquise par ces différentes brebis est éprouvée par inoculation intraveineuse de Chlamydia virulentes, lors de la seconde gestation suivant celle durant laquelle a eu lieu la primoinfection, c'est-à-dire :

- après 19 mois pour les brebis "inoculées"
- après 14 mois pour les brebis "contaminées".

.étude des 8 brebis inoculées

L'inoculation intraveineuse initiale, effectuée à 70 jours de gestation, entraîne l'avortement de toutes les brebis en 30 à 68 jours, avec excrétion vaginale de Chlamydia; les titres sériques en fixation du complément, sont compris entre 1/320 et 1/1280.

Suite à leur avortement, ces 8 brebis sont ressaillies : 2 ne remplissent pas, les autres mettent bas normalement, sans excrétion vaginale. Les titres sériques vont de 1/80 à 1/160.

L'inoculation d'épreuve a finalement lieu lors de la gestation suivante, chez seulement 4 brebis (dont les 2 précédemment vides) :

.Les 4 brebis non réinoculées agnellent normalement. Les titres sériques sont descendus à 1/20 ou 1/40. Aucune excrétion vaginale n'est constatée.

.Les 4 brebis éprouvées agnellent également tout à fait normalement. Aucune excrétion vaginale n'est mise en évidence. Les titres sériques, après inoculation, restent inchangés (1/80 ou 1/160). Après mise bas, ils sont de 1/40 1/80.

Ces brebis sont donc parfaitement immunisées, ni réceptives, ni sensibles. 18 mois environ après leur avortement, elles sont complétement protégées contre une inoculation intradermique de 8.10^7 Chlamydia virulentes.

.étude des 9 brebis contaminées

Le contact contaminant est obtenu par cohabitation avec des brebis infectées expérimentalement, durant une période allant de leur inoculation jusqu'à leur avortement. Au moment de ce contact, 3 brebis (A, B, C) sont pleines de 70 jours, 1 de 105 jours (D), et 5 sont vides (E, F, G, H, I). La gestation des brebis gravides n'est pas modifiée du fait de ce contact et aucune Chlamydia n'est excrétée durant les agnelages.

Les titres sériques ne croissent qu'après la période des mises bas, ce chez 5 brebis (2 pleines et 3 vides) avec un taux moyen de 1/160.

Après la lutte suivante, de nouveaux 4 brebis sont pleines (B, D, E, G). Mais cette fois, sans aucune intervention extérieure, 2 avortements sont à déplorer (D et E). Ces 2 brebis excrétent des Chlamydia dans leurs lochies et ont des titres sériques de 1/160 et 1/640.

Les 2 autres (B et G) mettent bas à terme, sans excrétion vaginale, avec des titres sériques voisin de 1/40.

L'inoculation d'épreuve a lieu, comme pour l'autre lot, au cours de la troisième gestation, ce chez les 4 brebis suivantes :

- A pleine la première fois seulement
- B pleine deux fois déjà sans aucun problème
- E vide la première fois, qui a avorté ensuite
- F qui n'a jamais rempli.

Les quatre ont une durée de gestation réduite d'une semaine, avec comme résultat pour chacune :

- E : 2 foetus morts, riches en Chlamydia
- A et B: 1 foetus dont l'examen ne permet pas l'isolement de Chlamydia
  : 1 agneau vivant
- F : 1 agneau vivant.

Et toutes les quatre excrètent des Chlamydia.

Les titres en anticorps augmentent peu, ni après l'épreuve (de 1/20 à 1/80), ni après la mise bas, sauf pour la brebis B chez laquelle ils atteignent 1/1280 après l'agnelage.

Il est intéressant d'ajouter que, parmi les 5 brebis non éprouvées, 1 avorte (la brebis C) et 2 excrètent des Chlamydia :

- la brebis G, qui met bas un agneau vivant à 140 jours; la gestation précédente, elle avait mis également bas normalement, mais sans excréter.

- la brebis C, qui vient d'avorter.

Elles ont respectivement des titres sériques de 1/160 et 1/1280, alors que les 3 autres brebis qui mettent bas normalement, sans excréter, ont des titres de 1/40.

En conclusion, nous voyons que :

- la primoinfection naturelle par contact entraîne une immunité faible; les durées de gestation sont à peu près normales

mais 4 agneaux sur 7 sont morts nés, l'excrétion vaginale à la mise bas est constante. Les brebis sont moins sensibles (l'action pathogène, en l'occurence l'avortement, est réduite) mais encore réceptives (la présence de Chlamydia dans l'organisme est prouvée par l'excrétion vaginale).

- aucune brebis n'avorte au terme de la gestation durant laquelle a lieu le contact contaminant; les Chlamydia n'ont pas le temps d'infecter l'utérus (aucune excrétion vaginale n'est décelée). Ce n'est que lors de la gestation suivante que 2 des 4 gestantes avortent (D et E). C'est donc bien lors de la gestation suivant l'introduction d'animaux contaminés dans un troupeau que les avortements débutent.

Si l'éleveur ne vérifie pas, dès leur introduction, l'état sanitaire des animaux achetés, ainsi que celui de leur élevage d'origine, il en subira les conséquences fâcheuses plusieurs mois plus tard. La contamination aura eu alors largement le temps de se propager dans tout son troupeau, et il n'aura que peu de recours envers le vendeur.

- la brebis E avorte lors de 2 gestations consécutives, ce qui est exceptionnel dans les conditions naturelles. Cela montre la forte virulence de l'inoculation intradermique, et l'état d'immunité très poussé que doivent présenter les brebis testées pour rester insensibles à une telle infection.

L'analyse des résultats expérimentaux obtenus, de protection vaccinale par exemple, doit tenir compte de ce fait.

L'excrétion vaginale de Chlamydia virulentes existe toujours lors d'un avortement mais peut exister sans avortement; ainsi lors de la seconde mise-bas normale de la brebis G (non éprouvée) ou lors de l'agnelage de la brebis F après inoculation intradermique.

Il semble exister une corrélation entre l'absence d'excrétion vaginale et le faible taux d'anticorps sériques. De nouveau

les anticorps fixant le complément apparaissent comme témoins de l'infection et non de l'immunité.

61.2 - Mesures offensives

Quand une chèvre avorte, il faut la séparer des autres immédiatement. Le peu de prodromes empêche un isolement préabortif qui serait l'idéal.

Les foetus et fragments de placenta, non envoyés au laboratoire, doivent être détruits. La désinfection des locaux doit se faire à la soude ou au formol.

Il est recommandé de traiter la mère localement, en mettant dans l'utérus un oblet de 500 mg de Terramycine, plusieurs jours de suite.

62 - PROPHYLAXIE MEDICALE -

L'antibioprévention systématique (500 mg de Terramycine tous les 15 jours à partir de trois mois et demi de gestation) se révèle chère, fastidieuse et non concevable sur le terrain. Elle peut éventuellement pallier à l'absence de vaccination si une enzootie se déclare dans le voisinage.

La vaccination est la seule prophylaxie médicale raisonnable. A noter cependant que la supplémentation en vitamine E augmente la résistance d'agneaux inoculés par voie intratrachéale avec des Chlamydia : comparé à des agneaux témoins, leur pneumonie est moins forte (avec impossibilité d'isolement de Chlamydia au niveau des poumons), leur appétit et leur croissance sont supérieurs (89).

L'efficacité d'une vaccination dépend bien sûr de l'état immunitaire du troupeau et de l'individu chez lequel est elle pratiquée; mais aussi des paramètres intrinséques du vaccin :

* son origine :

- nature des Chlamydia utilisées (origines ovine, caprine, autovaccin).

- milieu de culture utilisé.

* sa préparation :

- vaccin inactivé ou atténué.

* son contrôle :

* sa date d'injection :

- par rapport à la lutte.
- pendant les avortements.

62.1 - Origine du vaccin

a/.- Nature des Chlamydia

a_1/. Origine ovine

Les premières découvertes et études de la chlamydiose abortive des petits ruminants furent effectuées chez des brebis. Les vaccins du commerce sont donc principalement préparés avec des Chlamydia d'origine ovine. RODOLAKIS (70) rappelle que les résultats obtenus chez la chèvre avec ces vaccins sont irréguliers.

Néanmoins, YALCIN et GANE (112) relatent une vaccination efficace dans un troupeau de chèvres, avec le vaccin RICKOV, suite à 2 années d'avortement qui avait entraîné jusqu'à 45 % de mises bas anormales. Une injection unique entre 3 jours avant et 5 jours après la saillie entraîne une diminution considérable de ce taux; il tombe à 2,7 % chez les chèvres et 14 % chez les chevrettes vaccinées, contre 26,1 % chez les chevrettes non vaccinées.

a_2/. autovaccin

YALCIN et GANE ont testé en même temps un autovaccin, chez d'autres chevrettes, en 2 injections à 10 jours d'intervalle. Le résultat fut très décevant puisque 30 % d'entre elles furent vides ou avortèrent.

a_3/. origine caprine

Dans quatre troupeaux importants présentant des sérologies positives au printemps, BLONDEAU (5) utilise, avant la lutte, un vaccin huileux, inactivé préparé avec des Chlamydia isolées sur chèvres. Il s'en suit un résultat très probant : ni avortement, ni foetus non viable.

a_4/. parenté immunologique de Coxiella Burnetti

Le vaccin inactivé contre la fièvre Q, préparé avec Coxiella Burnetti, souche "Nine Mile", isolée aux USA, entraîne une augmentation des anticorps sériques anti-Chlamydia chez des moutons et des lapins, non indemnes de chlamydiose. Cette élévation du titre sérique est identique à celle obtenue avec le vaccin associé Coxiella - Chlamydia (22).

Chez deux chèvres indemnes de chlamydiose, le vaccin contre la fièvre Q n'entraîne pas l'apparition d'anticorps anti-Chlamydia, ce qui prouve la pureté du vaccin utilisé, donc la parenté antigénique entre Coxiella Burnetti et Chlamydia psittaci.

b/.- Milieu de culture utilisé pour la multiplication des Chlamydia.

Les cultures sur cellules semblent préférables aux cultures sur oeuf :

- la concentration des Chlamydia y est supérieure.

- toute réaction allergique post-vaccinale est annihilée du fait de l'absence de protéines aviaires.

- la virulence des Chlamydia, nous l'avons déjà dit, semble inférieure après culture sur cellules que sur oeuf, et leur atténuation pourrait, ainsi, en être facilitée.

62.2 - Préparation du vaccin

Il existe deux sortes de vaccin:

- les vaccins inactivés, dans lesquels les agents pathogènes présents sont tués (et parfois disloqués);subsiste uniquement leur pouvoir immunogène.

- les vaccins atténués, où les agents pathogènes sont vivants, mais rendus beaucoup moins agressifs, "avirulents" (on devrait dire hypovirulents), afin de ne pas entraîner d'action pathogène après leur introduction dans l'organisme.

Ils stimulent davantage l'immunité cellulaire que les premiers cités. Mais leur réalisation est beaucoup plus compliquée puisqu'il faut mettre au point et parfaitement maîtriser les procédés chimiques et/ou génétiques de réduction du pouvoir pathogène des germes utilisés afin de contrôler leur hypovirulence et d'être assuré de la persistance de l'atténuation ainsi obtenue.

Etudions plus avant les résultats obtenus lors de l'utilisation de chacun de ces vaccins dans des conditions expérimentales.

a/.- Etude d'un vaccin inactivé

RODOLAKIS et SOURIAU (78) ont testé sur des brebis l'efficacité d'un vaccin du commerce inactivé, adjuvé, préparé à partir de Chlamydia cultivées sur oeuf embryonné.

L'épreuve virulente consiste en l'inoculation de 6×10^7 Chlamydia virulentes cultivées sur oeuf, ce à 70 jours de gestation.

* soit par voie intradermique (ID)

- chez 9 brebis vaccinées en sous-cutané 5 semaines avant l'insémination.

- chez 8 brebis témoins.

* soit par voie intraveineuse (IV)

- chez 10 brebis vaccinées 2 semaines avant l'insémination
- chez 8 autres brebis témoins.

Résultats des mises bas, présence de Chlamydia au niveau du placenta, excrétion vaginale et titres sérologiques sont étudiés.

.Les avortements sont nombreux, décelés chez :

- tous les témoins, hormis 1 inoculé en IV
- 7 des 10 brebis inoculées en IV
- 4 des 9 brebis inoculées en ID.

La vaccination réduit donc sensiblement le nombre d'avortement si la voie d'entrée des Chlamydia est intradermique.

Cette voie intradermique est, nous l'avons déjà signalé, fort virulente. Les résultats obtenus sont donc encourageants.

La voie intraveineuse, qui abolit toute défense locale et ganglionnaire est encore plus infectieuse, car les Chlamydia, directement introduites dans le sang, ont alors toutes les facilités à coloniser le placenta. L'efficacité du vaccin est logiquement moindre.

.La présence des Chlamydia est constante dans les placentas étudiés :

* après épreuve intraveineuse :

Sur 2 brebis ayant avorté et sur 2 autres n'ayant pas avorté, les calques placentaires recèlent des Chlamydia.

Il y a donc présence de Chlamydia au niveau de l'utérus, même sans avortement; et ces Chlamydia sont bien vivantes (ce que ne peut révéler la coloration des calques) car une culture sur cellules permet de les isoler des pertes vaginales.

On ne sait si les agneaux sont contaminés car l'isolement des germes n'a pas été réalisé à leur niveau.

L'absence d'avortement laisse supposer un retard dans la colonisation utérine; celle-ci intervient alors trop près du terme pour empêcher une mise bas normale.

.L'excrétion vaginale est très peu diminuée par rapport aux témoins :

* dans le lot inoculé par voie IV,6 des 10 brebis sont testées, dont les 3 n'ayant pas avorté. Toutes excrètent des Chlamydia.

* dans le lot inoculé par voir ID,7 brebis sur 10 excrètent des Chlamydia :

  - 4 des 5 ayant avorté
  - 3 des 5 ayant mis bas normalement.

De même que précédemment, l'existence d'excrétion sans avortement peut s'expliquer par le fait que la vaccination n'empêche pas mais retarde la colonisation du placenta.

Le danger de dissémination chlamydienne, par voie vaginale, même sans avortement n'est pas annihilé par utilisation de vaccin inactivé.

Nous avons vu qu'il en était de même après une contamination par contact.

.La vaccination entraîne une montée des anticorps fixant le complément à des taux supérieurs ou égaux à 1/80, ce pendant au moins 3 mois.

L'inoculation d'épreuve, réalisée au bout de ces 3 mois, a provoqué une nouvelle hausse des titres sériques à 1/640 et plus; on ne peut donc savoir combien de temps auraient persisté les taux post vaccinaux, voisins de 1/80.

Bref, en n'apportant aucune protection immunologique, cette modification durable des titres sériques, vu les taux atteints,

empêche tout diagnostic sérologique ultérieur.

Ce grave préjudice s'effacera de lui-même si la vaccination devient totalement efficace et si les animaux vaccinés sont très bien répertoriés.

En effet, les résultats obtenus dans cette expérience ne sont pas très réconfortants; après vaccination puis inoculation d'épreuve intraveineuse ou intradermique :

- l'infection chlamydienne n'est pas prévenue puisque la colonisation des placentas est constante.

- l'excrétion vaginale n'est pas supprimée; seul le nombre des avortements est diminué, la vaccination provoquant vraisemblablement un retard de colonisation de l'utérus.

Un vaccin vivant atténué est-il plus efficace ?

b/.- Etude d'un vaccin vivant atténué

Les mêmes auteurs, RODOLAKIS et SOURIAU (81) ont vacciné des agnelles avec deux souches vivantes de Chlamydia psittaci var ovis, souches thermosensibles obtenues par mutagénèse à la Nitrosoguanidine.

Les 2 souches, 1B et 1 H sont utilisées chacune sur 20 agnelles, 11 semaines avant la saillie, respectivement à des doses de $3,9 \times 10^6$ et $3,5 \times 10^6$ UFP. Durant la première gestation, seules des observations sont effectuées pour bien vérifier la non agressivité des souches vivantes utilisées :

- la température des brebis ne s'élève que de $\frac{1}{2}$ degré, la semaine suivant la vaccination.

- le nombre de brebis pleines et leur durée de gestation ainsi que le nombre d'agneaux vivants et leur poids à la naissance sont normaux.

- aucune Chlamydia n'est isolée des lochies ou des quelques morts-nés existants.

- les titres en anticorps fixant le complément grimpent vers 1/160, un mois après la vaccination, pour redevenir normaux, c'est-à-dire inférieurs à 1/40 au bout de 6 mois. L'agnelage, qui survient environ 1 mois $\frac{1}{2}$ après ce retour à la normale ne modifie en rien les titres qui restent voisins de 1/20.

L'utilisation d'un vaccin vivant n'a donc aucunement perturbé la gestation qui a débuté 11 semaines plus tard. Reste à savoir si elle protège ces mêmes brebis, environ 15 mois plus tard, contre l'inoculation d'épreuve, à savoir l'injection intradermique de Chlamydia virulentes le 78° jour de la gestation suivante :

- parmi les 16 brebis gestantes vaccinées avec la souche 1 B, seules 4 donnent naissance à terme à des agneaux morts nés ou faibles. Ainsi sur 31 agneaux mis bas, 23 sont vivants. Ces chiffres se situent dans les normes, d'autant plus qu'il y a 2 dystocies à déplorer.

Les titres sériques, à l'inoculation, augmentent légèrement, à 1/80, pendant un mois.

Ils redescendent sous 1/40 avant l'agnelage et ne décrivent aucun pic à la mise bas.

Aucune brebis n'excrète de Chlamydia.

- parmi les 18 brebis vaccinées avec la souche 1 H et gestantes, 1 excrète des Chlamydia malgré une mise bas normale à 143 jours de gestation.

Cette brebis est la seule à présenter une montée des anticorps fixant le complément à l'agnelage. De nouveau, s'exprime

la corrélation positive excrétion vaginale de Chlamydia à la mise bas - forts taux sériques (cf. paragraphe 511 de ce chapitre).

2 brebis, qui ont une gestation raccourcie (137 et 139 jours) et 3 autres à terme, mettent bas des morts-nés. Ainsi, seuls 17 agneaux sont vivants sur 29 expulsés.

Dans cette expérimentation, la souche vivante thermosensible 1 B se révèle la plus efficace et donne des résultats très prometteurs quant à l'utilisation d'un vaccin vivant pour lutter contre la chlamydiose abortive des Petits Ruminants

- l'absence quasi totale de perturbation au cours des gestations ultérieures traduit une innocuité très poussée et durable (contrairement aux souches atténuées par de nombreux passages sur oeuf ou sur cellules qui retrouvent leur virulence dès leur premier passage sur animal (2)).

- la suppression des avortements et de l'excrétion vaginale, c'est-à-dire la suppression de la colonisation du placenta (malgré une inoculation intradermique en milieu de gestation) révèle une efficacité remarquable, et ce 15 mois après la vaccination.

L'immunité est quasi parfaite, comparable à celle obtenue après un avortement (cf. paragraphe 511).

La différence entre vaccin inactivé et vaccin atténué est donc très nette. Reste à attendre la commercialisation de ce vaccin atténué et à connaître la durée de l'immunité conférée.

62.3 - Contrôle du vaccin

Les résultats obtenus, après vaccination, sont inconstants dans les conditions naturelles. D'après FOOGIE (30), une

légère modification de la préparation suffit à diminuer son efficacité. Des méthodes expérimentales, permettant, à moindre coût, un contrôle qualitatif du vaccin, sont donc nécessaires:

- RODOLAKIS (69) propose l'utilisation préalable de l'inoculation de la souris gestante, par voie intrapéritonéale, avec une suspension virulente de Chlamydia cultivées sur cellules, afin d'obtenir une chlamydiose reproductible, très semblable à l'infection naturelle de la brebis. Le modèle ainsi retenu, reposant sur des paramètres connus et facilement quantifiables, permettrait une analyse, in vivo, de l'efficacité des vaccins.

- RUSSO et GIAUFFRET (86) suggèrent, eux, un contrôle in vitro grâce à la mise en oeuvre du test de transformation lymphoblastique. En effet, leur étude, sur des agneaux, prouve que le taux facilement quantifiable de transformation lymphoblastique (fonction, nous le rappelons, de l'immunité cellulaire) est très fortement augmenté six semaines après la vaccination.

62.4 - Date d'injection du vaccin

Pour les vaccins vivants atténués, il est bien sûr hors de question de les utiliser après la lutte.

Pour les vaccins inactivés, le danger de leur utilisation, pendant la gestation réside surtout dans le fait qu'une hyperthermie peut arriver, surtout si les Chlamydia utilisées ont été cultivées sur oeuf embryonné.

RODOLAKIS (74) préconise une vaccination un mois avant la

saillie, sur tous les animaux la première année de prophylaxie, sur les chevrettes et les chèvres introduites dans le troupeau, les années suivantes.

Il nous semble nécessaire d'effectuer des rappels annuels, et ce sur tout le troupeau car :

- les régions où est pratiquée à l'heure actuelle la vaccination, sont des régions à risques.

- l'immunité acquise par les chèvres est de courte durée, en ce qui concerne la chlamydiose.

- les vaccins du commerce sont, pour l'instant, inactivés et n'empêchent pas l'excrétion vaginale de Chlamydia. Donc les chèvres introduites, même vaccinées, représentent un danger potentiel; sauf si l'état sanitaire du troupeau donneur est irréprochable.

KAUKER et MINNERS (45) relatent, chez des brebis, l'efficacité d'un vaccin tué, en pleine période abortive, avec disparition des avortements dans deux troupeaux, 10 jours après la vaccination.

Un tel résultat est difficilement compréhensible : les avortements chlamydiens arrivent en fin de gestation et sont le résultat d'une infection durable. Les placentas des brebis voisines qui vont avorter, sont déjà infectés eux aussi depuis longtemps. La vaccination agit en évitant la colonisation placentaire. Si celle-ci existe déjà, comment le vaccin peut-il alors être efficace ?

CHAPITRE IV

ETUDE EXPERIMENTALE

DE L'AVORTEMENT CHLAMYDIEN

CHEZ LA CHEVRE

I - MATERIELS ET METHODES -

11 - SOUCHE -

La souche de Chlamydia psittaci, utilisée pour l'inoculation a été isolée d'un écouvillon vaginal de chèvre , avortée dans un des troupeaux de l'I.N.R.A.

Cette souche caprine, AC 1, a subi un passage sur cellules (pour son isolement initial) puis deux passages sur un oeuf (pour sa multiplication) avant surgélation.

12 - CULTURE ET TITRAGE DES CHLAMYDIA PAR LA TECHNIQUE DES PLAGES DE LYSE (RODOLAKIS et CHANCERELLE, 1977).

Les cultures in vivo et in ovo ne seront pas utilisées.

Seule la technique de culture in vitro, avec formation de plages de lyse, sera adoptée pour la recherche des Chlamydia d'origine vaginale ou fécale. Son extrême sensibilité, sa simplicité, et son caractère quantitatif lui donnent une place de tout premier rang dans les techniques de diagnostic expérimental direct.

12.1 - Principe

Une Chlamydia vivante, déposée sur une monocouche de cellules, pénètre dans une de ces cellules et en provoque la lyse au terme de son développement contaminant ainsi toutes les cellules environnantes. Cette dissémination centrifuge va provoquer, pour chaque Chlamydia, une plage de lyse circulaire qui, après apport de rouge neutre, contrastera avec les cellules vivantes du tapis, faute de pouvoir fixer ce colorant vital.

12.2 - Technique

La technique des plages de lyse nécessite :

- l'entretien d'une lignée cellulaire, en bouteilles stériles.
- la préparation de cupules de tapis monocellulaires prêts à inoculer
- l'inoculation et la culture des Chlamydia
- la mise en évidence et la numération des Chlamydia.

a/. Entretien d'une ligne cellulaire, en monocouche.

Des cellules Mc Coy (cellules synoviales humaines) sont entretenues dans des bouteilles en plastique stériles, de 280 ml, parallélipipédiques, dotées d'un bouchon hermétique, et disposées dans une étuve à 37° C. Le tapis confluent, adhérant à une des parois de la bouteille, est recouvert de 20 ml d'un milieu liquide nutritif, appelé milieu 5NNB (nouveau-né bovin) constitué du milieu de Eagle modifié, additionné de 5 % de sérum de veau nouveau-né. (Annexe 1).

Lorsque le milieu s'épuise ou que le nombre de cellules devient trop important, le tapis dégénère. Il faut donc le diviser (par adjonction de trypsine) et le diluer au quart dans du milieu 5NNB neuf. Toutes ces opérations (dont le protocole est présenté sur l'annexe 2) doivent être réalisées dans des conditions strictement stériles, étant donné la richesse du milieu de culture 5NNB qui permet tout développement bactérien, viral ou mycosique. Aucun antibiotique ou antifongicide n'est additionné à ce milieu, pour ne pas laisser subsister de quelconques souillures.

b/. Préparation des cupules utilisées pour l'inoculation.

La culture et le titrage des Chlamydia s'effectue, dans la technique des plages de lyse, sur des monocouches cellulaires, tapissant le fond de cupules de 35 mm de diamètre, groupées par plaques de 6 (LINBRO Disposo Tray).

COMPOSITION DU MILIEU NUTRITIF : milieu de Eagle modifié

pour un litre :

- solution saline d'Earle (concentrée 10 fois)	200,0 ml
- hydrolysat de lactalbumine	10,0 g
- extrait de levure	2,0 g
- $NaHCO_3$	2,8 g
- glucose	7,3 g
- acides aminés, milieu minimum d'Eagle (concentré 50 fois)	40,0 ml
- vitamines, milieu minimum d'Eagle (concentré 100 fois)	20,0 ml
- glutamine (200 mM)	20,0 ml
- pyruvate de sodium (100 mM)	20,0 ml

MILIEU NNB

milieu de Eagle modifié additionné de sérum de veau nouveau-né

MILIEU SFB

milieu de Eagle modifié additionné de sérum foetal bovin

PARAMETRES PHYSIQUES DE L'ETUVE

- hygromètrie saturée : 60 - 70 %
- atmosphère à 5 % de CO_2 qui équilibre le tampon bicarbonate du milieu nutritif (contrôle du pH).

PREPARATION DU TAMPON PBS (Phosphate Buffer Saline), pH 7,2

Solution A (pH 7,4)		Solution B (pH 6,7)	
NaCl	8,0 g/l	$CaCl_2$	0,1 g/l
KCl	0,2 g/l	$MgCl_2$, 6 H_2O	0,1 g/l
Na_2HPO_4, $12H_2O$	2,89 g/l	eau désionisée	200,0 ml
KH_2PO_4	0,2 g/l		
eau désionisée	800,0 ml		

Mélange des deux solutions après auto-clavage séparé.

ANNEXE 1

PROTOCOLE D'ENTRETIEN D'UNE LIGNÉE CELLULAIRE EN BOUTEILLE

Tapis confluent de cellules Mc Coy, adhérant à la paroi plane d'une bouteille en plastique et recouvert de 20 ml de milieu NNB.

↓

Elimination du milieu NNB par aspiration

↓

Individualisation des cellules par addition de 5 ml de trypsine

↓

Elimination partielle et rapide de la trypsine

↓

Incubation quelques mn à 37° C jusqu'à un décollement partiel du tapis de la paroi

↓

Ajout de 4 ml de milieu 5 NNB neuf et mise en suspension des cellules individualisées, par aspiration et refoulement du milieu.

↓

3 ml de suspension aspirés → Rejet

→ Préparation de 24 cupules prêtes à inoculer (cf Annexe 3).

1 ml de suspension laissé dans la bouteille

1 ml de suspension dans une bouteille neuve

↓

Ajout de 20 ml de milieu 5 NNB neuf

Fermeture hermétique de la bouteille et mise en étuve à 37°C, 3 ou 4 jours

ANNEXE 2

Comme on peut le voir dans le protocole d'entretien d'un tapis cellulaire, 3 ml de suspension cellulaire en milieu 5NNB sont disponibles à la fin de l'opération.

Ces 3 ml sont alors dilués dans 50 ml de milieu 5NNB neuf (cf Annexe 3).

Chaque cupule recevant ensuite 2 ml de cette suspension finale, on peut donc remplir 24 cupules, soit 4 plaques. Une incubation de ces plaques dans une étuve à 38° C, renfermant 60 à 70 % d'humidité et 5 % de CO_2, permettra d'obtenir 24 tapis confluents prêts à inoculer, au bout de 48 H. Ces conditions d'ambiance sont nécessaires car les plaques ne ferment pas hermétiquement, contrairement aux bouteilles.

c/. Inoculation et culture des Chlamydia d'origine vaginale ou fécale.

Avant inoculation, on examine les cupules au microscope optique pour apprécier la qualité des tapis. Les cellules doivent être confluentes et fusiformes. Si elles apparaissent rondes, elles ne sont pas bien fixées au fond de la cupule ; il peut simplement s'agir de cellules qui se divisent. Un trop grand nombre de cellules "rondes" ou flottant dans le milieu indique que le tapis est trop riche et qu'il risque de se décoller à l'inoculation.

L'obtention des inocula, d'origine vaginale ou fécale, utilisés est développée respectivement dans les paragraphes 110 et 111 de ce chapitre.

Après aspiration des 2 ml de milieu 5 NNB, chaque cupule reçoit 0,2 ml d'inoculum, pur ou dilué (2 ou 3 cupules par dilution). Les plaques sont alors agitées manuellement, pour permettre une répartition de ces 0,2 ml sur tout le tapis cellulaire. Si des particules solides sont visibles (coton d'écouvillon, mucus, fibres végétales de fécès), un lavage au tampon PBS (annexe 1) permet leur élimination, car l'intégrité du tapis ne résisterait pas à de tels corps étrangers.

CULTURE DES CHLAMYDIA PAR LA TECHNIQUE DES PLAGES DE LYSE

Préparation en 48 h. d'un tapis cellulaire prêt à inoculer dans 24 cupules, soit 4 plaques.

3 ml de suspension de cellules individualisées (cf annexe 2) refoulés dans une bouteille neuve.

↓

Ajout de 50 ml de milieu 5 NNB neuf

↓

Répartition dans 24 cupules recevant chacune 2 ml.

↓

Mise à l'étuve 48 h. à 38° C avec 70 % H_2O et 5 % CO_2.

↓

Inoculation

Aspiration des 2 ml de milieu 5 NNB

↓

Répartition des 0,2 ml d'inoculum sur tout le tapis.

↓

Aspiration des 0,2 ml après 1 à 2 h.

↓

Culture des Chlamydia

Ajout de 2 ml de milieu SFB 20 % - agar

7 jours ↓

Ajout de 1 ml de milieu NNB 20 % - agar

↓

6 jours

↓

Mise en évidence des Chlamydia

Ajout de 1 ml de rouge neutre dilué à 1 %

1 jour

Lecture et comptage.

ANNEXE 3

Une inoculation à 38° C, 5 % CO_2, 60 - 70 % d'humidité pendant 1 à 2 heures environ pour les inocula d'origine vaginale ou 1 h. pour les inocula fécaux (plus toxiques pour le tapis) permet la pénétration des Chlamydia dans les cellules Mc Coy).

Les 0,2 ml sont alors aspirés et remplacés par 2 ml de milieu nutritif composé :

pour moitié, de milieu nutritif SFB (sérum foetal bovin) à 20 % (annexe 1)

pour moitié, d'agar à 1,5 % qui limite la dispersion des Chlamydia libérées par la lyse d'une cellule aux seules cellules avoisinantes et permet ainsi la formation de petites plages circonscrites et individualisées.

A ce milieu nutritif sont ajoutés antifongiques (Fungizone, Mycostatine), et antibiotiques (Gentalline, Vancomycine), déjà présents dans les inocula fécaux, mais encore inexistants dans ceux d'origine vaginale (ce qui pourra permettre, à postériori, une recherche d'autres bactéries abortives à partir de l'échantillon de 1 ml conservé au congélateur).

Après une semaine d'incubation, toujours dans les mêmes conditions, 1 ml de milieu nutritif NNB à 20 % (moins onéreux que le milieu SFB) dilué au demi avec de l'agar (1,5 %), et toujours additionné d'antigonfiques et d'antibiotiques est rajouté dans chaque cupule pour entretenir la culture chlamydienne pendant 6 jours encore.

d/. Mise en évidence des Chlamydia et numération

Les plages ne deviennent en effet visibles à l'oeil nu que vers le 13° jour de culture, et ce d'autant plus facilement que l'on y ajoute 1 ml d'un mélange, eau physiologique et agar, contenant 1 % de rouge neutre qui ne va colorer que les cellules vivantes et individualiser ainsi les plages de cellules lysées.

Le lendemain, on compte à l'oeil nu, sur un fond lumineux le nombre de plages par cupule, plages qui ont l'aspect de petites tâches blanches, de 1 à 2 mm de diamètre. Des altérations du tapis peuvent parfois prêter à confusion. La distinction est cependant facile car au microscope optique, les plages ont un aspect très particulier de "verre brisé compilé".

Chaque plage correspond à une UFP (unité formant plage), c'est-à-dire à une Chlamydia. En fonction de la dilution à l'inoculation on calcule le nombre de Chlamydia vivantes, présentes dans 1 ml d'inoculum pur.

13 - ANIMAUX -

12 chevrettes multipares, de race Alpine, issues d'un troupeau sans problèmes d'avortement, de la station de l'I.N.R.A. NOUZILLY sont séparées en 2 lots de 6, dans deux enclos mitoyens séparés par un ratelier.

Les lots sont dénommés A et B.

Les chevrettes du lot A seront inoculées avec une suspension de Chlamydia d'origine caprine, 10 fois plus riche en germes que celle utilisée pour le lot B.

Chaque chèvre sera désignée par un sigle comprenant, dans l'ordre :

- la lettre de son lot;
- un chiffre correspondant à son ordre d'avortement dans son lot propre.
- un chiffre ou un nombre correspondant à son rang d'avortement les 2 lots confondus.

Ainsi la chèvre A 49 fait partie du lot A. Elle a avorté en quatrième rang dans son lot, mais au neuvième rang si l'on considère les 12 chèvres dans leur ensemble.

Une chèvre du lot B sera désignée B 00. En effet, le diagnostic de gestation par ultrasons (reposant sur l'effet Doppler), pratiqué à 4 et 3 jours avant l'inoculation, puis après celle-ci n'a jamais pu mettre en évidence de bruits cardiaques foetaux. Cette chèvre B 00 est donc considérée comme non gestante (bien qu'ayant été retenue pour l'expérimentation suite à un diagnostic de gestation hormonal positif). Aucun signe d'avortement et aucune mise bas ultérieure nous conforteront dans notre position.

Elle avait pourtant, comme les 11 autres chevrettes, près de 3 mois avant, été présentée au bouc, deux fois à 48 h. d'intervalle. Aucun retour en chaleur ne fut signalé ensuite.

De fortes suspicions de paratuberculose pesaient aussi sur ces chèvres. Un diagnostic expérimental comportant :

- une fixation du complément
- une recherche de réponse allergique à l'intradermo;
- une recherche d'amas de bacilles de Jöhne dans les fécès

a donné des résultats positifs chez les 6 chèvres suivantes:

A 11, A 34, A 49, B 00, B 47, et B 53.

DIAGNOSTIC EXPERIMENTAL DE PARATUBERCULOSE

CHEVRE	EXAMENS		
	FC 1/10	I D	Coproscopie
A 11	+	+	-
A 34	+	-	-
A 49	-	-	+
B 00	-	-	+
B 47	+	+	-
B 53	-	+	-

14 - DIAGNOSTIC DE GESTATION PAR ULTRASONS ET EFFET DOPPLER

Le principe du diagnostic repose sur l'effet Doppler. Des ultrasons émis à partir d'une source fixe sont réfléchis par tout corps mobile, tel que le coeur ou les globules sanguins; ils subissent alors une modification de fréquence proportionnelle à la vitesse de déplacement de l'ensemble réflecteur. On dispose d'une sonde exploratrice qui émet des ultrasons puis les reçoit. Celle-ci est reliée à un appareil qui convertit la différence de fréquence entre les ultrasons incidents et réfléchis en signaux audibles, caractéristiques des corps réflecteurs.

Le critère du diagnostic de gestation retenu est la reconnaissance et l'écoute du rythme cardiaque foetal, soit au niveau du coeur du foetus, soit au niveau d'une de ses artères.

Un excellent contact sonde - peau abdominale est nécessaire à la transmission des ultrasons. En conséquence :

- la région abdominale de la chèvre doit être rasée
- une matière onctueuse (huile de paraffine en l'occurence) doit combler les interstices entre la peau et la sonde
- la sonde doit être appliquée assez fortement sur l'abdomen de la chèvre
- la chèvre doit être maintenue immobile et debout par un aide.

L'on fait ensuite parcourir la sonde sur l'abdomen de la chèvre en commençant par la zone préinguinale droite et l'on varie la région utérine atteinte par les ultrasons incidents, en inclinant différemment la sonde dans un angle solide puis en la translatant jusqu'à audition du rythme cardiaque fétal. Ce rythme est de 120 à 160 par mn, donc supérieur à celui de la mère au repos qui avoisine 80 pulsations par mn. D'où la nécessité de ne pas brusquer les chèvres, dont le pouls s'élève facilement à 120 et pourrait alors être confondu avec celui du (ou des) foetus. A ce propos, cette technique ne permet pas de préciser le nombre des foetus.

Une recherche positive indique, sans ambiguité aucune, qu'au moins un foetus est vivant, mais il se peut que coexistent un ou plusieurs foetus morts.

Une absence de bruits foetaux indique que tous les foetus sont morts. Dans l'éventualité d'une mauvaise position de la sonde, un examen supplémentaire est alors automatiquement effectué le lendemain pour confirmation. Après deux examens successifs négatifs, la chèvre subit une surveillance plus soutenue, en vue de son avortement.

Ce diagnostic a débuté le 84 ° jour de gestation, c'est-à-dire quatre jours avant l'inoculation. A ce stade de développement fétal le diagnostic de non gestation se révèle exact à 100% mais celui de gestation n'est pas toujours porté. Ils se révèlent chez la brebis, tous les deux surs vers le 110° jour. (BOSC, 1971).

Ce diagnostic a été réitéré pour toutes les chèvres :

- le lendemain du premier examen; donc trois jours avant l'inoculation et a révélé la chèvre B 00 non gestante;
- les dix jours suivant l'inoculation;
- une fois par semaine, ensuite, jusqu'à l'avortement (répétant l'opération le lendemain des examens négatifs).

Une marque indélibile, au point de meilleure écoute du rythme cardiaque foetal, a nettement facilité ces nombreux examens successifs.

15 - INOCULATION -

L'inoculation intra-dermique de Chlamydia psittaci d'origine caprine est réalisée à l'épaule le 88° jour de gestation, sous un volume de 1 ml, après rasage local.

Les 6 chèvres du lot A reçoivent 2.10^7 UFP (unité formant plage), celle du lot B seulement 2.10^6 UFP (titrage de l'inoculum par la technique des plages de lyse).

16 - RELEVE THERMIQUE -

La température rectale des chèvres est relevée les 3 jours précédant l'inoculation puis les 10 jours suivants, ce matin et soir.

17 - EXAMEN CLINIQUE -

Celui-ci, de façon régulière, porte sur l'état général, la réaction locale au point d'inoculation, les yeux, les articulations, les mamelles, les symptômes pré et post-abortifs. Aucun traitement ne sera administré durant toute l'expérimentation.

18 - SUIVI SEROLOGIQUE -

Une prise de sang est effectuée à chaque chèvre juste avant l'inoculation puis toutes les semaines, pendant 10 semaines.

Après coagulation et centrifugation, le sérum est analysé immédiatement en fixation du complément (microméthode en plaque, de type Kolmer, à froid) ou congelé à - 20° C en

attendant de subir cette réaction.

18.1 - Principe de la réaction de fixation du complément

La réaction de fixation du complément permet la mise en évidence des immunoglobulines sériques G_1, G_3 et dans une moindre mesure M. Nous connaîtrons la cinétique de ces anticorps anti-Chlamydia dans le sérum des chèvres inoculées grâce à l'analyse hebdomadaire effectuée.

Sont ajoutés au sérum décomplémenté étudié, des antigènes chlamydiens, en l'occurence de groupe, et du complément, en quantités connues. Les anticorps présents réagissent avec les antigènes apportés en excès et forment des complexes Ag-Ac qui vont fixer le complément.

Cette réaction sera mise en évidence par apport ultérieur d'un autre système Ag - Ac, celui-là hémolytique (hématies de mouton, anticorps de lapin anti-mouton).

Si le complément est déjà fixé, du fait de la présence d'anticorps anti-Chlamydia, les globules rouges de mouton sédimenteront et formeront un disque rouge. Le test sera dit positif.

Si le complément est resté libre, par absence d'anticorps anti-Chlamydia, il pourra se fixer au système hémolytique et entraîner la lyse des hématies. Le test sera dit négatif.

18.2 - Pouvoir anticomplémentaire

Le pouvoir anticomplémentaire d'une substance est sa capacité à fixer le complément, en l'absence de complexe Ag - Ac. Il entraîne alors des fausses réactions positives. Les différents réactifs utilisés doivent donc être préalablement testés.

a/. Le sérum

Un témoin sérum, comportant uniquement un sérum décomplémenté et du complément, devra laisser apparaître, faute d'antigène, une hémolyse des hématies sensibilisées.

b/. L'antigène thermostable de groupe

L'antigène est intégré dans la réaction de titrage du complément (cf paragraphe suivant).

La dilution du complément retenue pour la réaction de fixation prend donc en considération l'éventuel pouvoir anticomplémentaire de cet antigène, puisque les propriétés hémolytiques du complément ont été quantifiées en sa présence.

18.3 - Titrage du complément

a/. Principe

La réaction de fixation du complément dépend uniquement de la quantité de complément, resté libre après fixation au complexe Ag - Ac Chlamydien. La quantité initiale doit donc être connue et fixée par un titrage préalable. On utilise pour cela le système hémolytique qui permet une visualisation quantitative par hémolyse. Différentes dilutions de complément sont mises en présence du système hémolytique afin de définir la quantité minimale de complément nécessaire à l'hémolyse totale (100 %) quantité qui est définie comme une unité hémolytique 100 % ou 1 UH 100. Pour annihiler l'effet "decay" ou "pourrissement" du complément, dû à la très grande labilité de sa fraction C 2a (quelques heures à + 4 ° C), on utilise dans la réaction de fixation du complément 2 UH 100.

b/. Réactifs et matériels

- Complément lyophilisé, issu de sérum de cobaye (PASTEUR)

- Antigène "Chlamydia ovis" (Roger BELLON)
- Système hémolytique
  - sérum hémolytique : anticorps de lapin anti-mouton (PASTEUR)
  - globules rouges de mouton
- Tampon véronal (Bio MERIEUX).

Le tampon véronal est dilué au 1/5 en eau distillée au moment de l'emploi, et entreposé à + 4 ° C (La dénomination tampon véronal, utilisée par la suite, correspondra à cette dilution).

- Plaques de microtitration à 12 x 8 cupules, à fond en U et ruban adhésif correspondant
- Microdiluteur à 12 griffes de 50 µl chacune
- Centrifugeuse pour plaques
- Miroir de lecture
- Bains maries à 37° C et 58° 5 C
- Micropipettes de 25 à 50 µl

c/. Techniques

Le complément, dilué dans son solvant, est ensuite dilué au 15°, au 20° et au 25° dans du tampon véronal.

La plaque de microtitration est disposée de façon à obtenir 8 colonnes et 12 lignes. Les deux premières colonnes reçoivent 50 µl du complément dilué
- au 15° dans les 4 premières lignes
- au 20° dans les 4 lignes suivantes
- au 25° dans les 4 dernières lignes.

50 µl de tampon véronal sont déposés ensuite dans toutes les cupules, excepté celles de la première colonne, dont les dilutions vont rester inchangées. On déplace ensuite le microdiluteur de gauche à droite, à partir de la deuxième colonne pour obtenir ainsi des dilutions doubles de colonne en colonne :

15°, 30°, 60°, 120°, ... pour les 4 premières lignes
20°, 40°, 80°, 160°, ... pour les 4 lignes suivantes
25°, 50°, 100°, 200°, ... pour les 4 dernières lignes.

Sont ajoutés ensuite, dans toutes les cupules utilisées, 25 µl d'antigène reconstitué et dilué au 1/5 dans du tampon véronal. Après "scotchage" et centrifugation légère, la plaque est incubée 30 mn dans un bain marie à 37° C.

25 µl de système hémolytique sont alors déposés dans chaque cupule. Suit une nouvelle incubation de 30 mn à 37° C.

La lecture finale donne la dilution maximale de complément pour laquelle l'hémolyse est totale (absence de dépôt globulaire). Les 4 cupules de 50 µl, qui possèdent cette hémolyse 100 %, contiennent chacune, par définition, une unité hémolytique 100 % (1 UH 100).

On emploie comme nous l'avons déjà dit, 2 UH 100 dans la réaction de fixation du complément, et ce sous un volume de 25 µl seulement. On devra donc utiliser le complément à une dilution 4 fois moindre. Ainsi, si l'hémolyse totale est obtenue jusqu'à la dilution 1/100 dans le titrage du complément, une dilution du complément au 1/25 sera nécessaire pour la réaction de fixation du complément.

18.4 - Matériels et réactifs de la réaction de fixation du complément proprement dite

Ce sont les mêmes que pour le titrage du complément, avec bien sûr, en plus :

- les 12 sérums caprins à analyser
- un sérum témoin positif au 1/160
- un sérum témoin négatif.

18.5 - Technique de la réaction de fixation du complément

a/. Préliminaire

Les sérums précités subissent tous la même technique mais celle-ci ne sera décrite que pour les 12 sérums à analyser (chacun d'entre eux correspondant à une des 12 lignes de la plaque de microtitration).

Les sérums caprins, dans une réaction préliminaire, se révèlent tous positifs au 1/10, même avant l'inoculation (cf paragraphe 25 de ce chapitre). La première colonne, qui correspond à cette dilution 1/10, servira de témoin du pouvoir anticomplémentaire des sérums et ne recevra pas d'antigène. Les 7 autres colonnes seront ainsi disponibles, et la recherche d'anticorps pourra être poussée jusqu'à une dilution sérique de 1/1280.

b/. Décomplémentation des sérums

Chaque sérum, dilué au 1/5 dans du tampon véronal, est porté au bain-marie à 58° 5 C pendant 1/2 h.

c/. Fixation du complément

Dans chaque cupule de la première colonne, nous déposons respectivement 50 µl de ces 12 sérums dilués au 1/5 et décomplémentés. Chaque ligne correspondra donc, comme nous l'avons déjà dit, à une chèvre.

50 µl de tampon véronal sont ensuite versés dans toutes les cupules de la plaque. La dilution finale des sérums de la première colonne devient donc 1/10.

On plonge alors les 12 griffes du microdiluteur dans cette première colonne, on mélange, et ainsi de suite dans les colonnes suivantes, pour obtenir 1/20, 1/40 ; jusqu'à 1/1280 pour la huitième et dernière colonne.

25 µl d'antigène reconstitué et dilué au 1/5 sont ensuite ajoutés dans toutes les cupules, sauf celles de la première colonne, qui serviront de témoin anticomplémentaire pour chaque sérum.

Il ne reste plus qu'à déposer 25 µl de complément, titré à 2 UH 100, dans chaque cupule et à agiter doucement la plaque avant de la placer à 4° C pendant 18 h ; d'où le nom de réaction "à froid" (au demeurant beaucoup plus sensible que la technique dite "à chaud" où la fixation du complément ne dure que 30 mn à 37° C).

d/. Addition du système hémolytique après 18 h à 4°C

25 µl du couple hémolytique sont apportés dans chaque cupule.

Un scotch transparent obture ensuite toutes les cupules.

Les réactifs sont de nouveau bien mélangés, par emploi de la centrifugeuse pour plaques, puis laissés 30 mn au bain-marie à 37° C et enfin, quelques temps à - 4° C avant lecture, pour permettre la sédimentation des globules rouges non lysés.

e/. Lecture

La fixation du complément par le complexe Ag - Ac chlamydien se visualise par un dépôt des globules rouges de mouton au fond de la cupule. La lecture est facilitée par l'emploi du miroir de lecture.

La notation, utilisée pour les graphiques, correspond à l'inverse de la dilution maximale où apparaît ce dépôt (signant la présence d'anticorps). On accorde ensuite un correctif qui interprête la quantité du dépôt globulaire :

1+	léger	75 %	
2+	moyen	50 %	
correspond à un dépôt	c'est-à-dire		d'hémolyse
3+	conséquent	25 %	
4+	total	0 %	

Ainsi, un titre de 20 3 + signifie qu'à la dilution 1/20, existait une forte sédimentation globulaire, et un début d'hémolyse. Cela sous-entend qu'à la dilution 1/40, l'hémolyse était de 100 %, donc qu'aucun anticorps anti-Chlamydia, n'était révélable à cette dilution supérieure.

19 - ETUDE DES FOETUS ET DES PLACENTAS -

L'identité de la mère, la durée de gestation, le nombre des foetus, leur poids, leur sexe si possible, sont notés.

Les placentas, dans la majorité des cas, sont retrouvés car leur expulsion :

- se fait avec le foetus, et ce presque toujours au même endroit de l'enclos, à savoir dans le couloir de contention où les chèvres peuvent s'isoler plus facilement.

- est attendue, de par les symptômes pré-abortifs et un diagnostic de gestation préalablement négatif (5 cas sur 11).

19.1 - Etude macroscopique

a/. Les foetus

Après avoir noté leur état de développement et de conservation, une autopsie sommaire est réalisée, pour révéler les lésions majeures.

b/. Les placentas

Leur aspect, leur consistance, l'état des villosités choriales sont examinés.

19.2 - Etude microscopique

a/. Réalisation de calques

Un calque du tissu sous-cutané pour les premiers foetus avortés, puis une section de rate, foie et poumon pour les autres permettra une recherche des Chlamydia chez le foetus.

Quelques calques sont réal isés aussi à partir de houppes placentaires et de particularités lésionnelles (liquide d'oedème, amas bruns crêmeux souvent mis en évidence lors d'avortements chlamydiens).

b/. Coloration des lames

Après fixation par la chaleur, les calques réalisés sur lame de microscope, subissent uine coloration de Stamp, modifiée du fait que le bleu de méthylène est remplacé par du vert malachite à 5 °/oo.

c/. Réactifs et technique

La première coloration s'effectue pendant 5 mn avec de la fuchsine basique de Ziehl diluée extemporanément au 1/5.

La différenciation utilise une solution d'acide acétique à 3 °/oo, qui est versée à la pipette sur la lame pendant quelques secondes, le temps que l'acide acétique n'entraîne plus la fuchsine.

On rince ensuite à l'eau avant d'ajouter le colorant de contraste, du vert malachite à 5 °/oo, qui restera 5 mn sur la lame puis sera rincé.

d/. Lecture

La lame doit être séchée avant examen à l'objectif à immersion.

Du fait de leur acido-résistance, les Brucella et les Coxiella prennent aussi cette coloration. Mais quelques différences de morphologie et de localisation peuvent aider un observateur appliqué dans son diagnostic.
Les Brucella sont de taille supérieure, plus allongées (0,5x 1,5 u) et le plus souvent intracellulaires.
Les Coxiella sont, elle aussi, légèrement ovales, plus polymorphes et plus dispersées.

Les germes du fait de la coloration utilisée apparaissent en rouge sur fond vert ou vert brunâtre.

Les Chlamydia apparaissnent comme de petits points, très ronds; l'observateur est aidé par leur regroupement fréquent en amas, plus perceptibles à l'oeil; leur localisation n'est pas exclusivement intracellulaire, au contraire.

L'extrême abondance de corps élémentaires sur nos lames nous a fortement facilité leur observation.

Mais bien sûr, un simple diagnostic bactérioscopique serait trop incertain et doit être accompagné d'examens sérologiques et de l'isolement du germe soupçonné.

110 - RECHERCHE DES CHLAMYDIA VIVANTES, DANS LE CONDUIT VAGINAL -

110.1 - Prélèvements

Ils sont pratiqués sur toutes les chèvres 15 jours et 1 mois après l'inoculation, puis toutes les semaines. Sur une chèvre qui avorte ils sont réalisés le jour même de l'expulsion (J), le lendemain (J + 1) et le surlendemain (J + 2).

Nous utilisons des écouvillons vaginaux stériles, fabriqués par nos soins pour que l'embout elliptique en coton ait une longueur de 3 cm et un diamètre de 1 cm (écouvillons du commerce trop fins). Si les écoulements vaginaux sont insuffisants, l'écouvillon est humecté avec du tampon phosphate (PBS) pour ne pas irriter la muqueuse vaginale des chèvres.

110.2 - Obtention de l'inoculum à partir de l'écouvillon vaginal

Chaque écouvillon obtenu est plongé stérilement dans un tube à essai contenant 3 ml de "milieu de conservation".

Une agitation rapide, grâce à un agitateur "Vortex" permet la diffusion des Chlamydia dans le milieu liquide. L'écouvillon est alors retiré et placé dans un container qui sera autoclavé. 1 ml de cette suspension chlamydienne en "milieu de conservation", qui augmente la résistance des Chlamydia à la congélation, est conservé à - 70° C. Le reste sert à l'inoculation, soit pur soit dilué dans du tampon phosphate, auquel est ajouté 1 % de DEAE dextran qui facilite l'adsorption des Chlamydia aux cellules du tapis.

111 - RECHERCHE DE CHLAMYDIA VIVANTES DANS LES EXCREMENTS -

111.1 - Prélèvements

Ceux-ci ne débuteront que 15 Jours après le premier avorte-

ment, puis seront réalisés sur toutes les chèvres, chaque semaine. Huit à douze crottes sont prélevées directement dans le rectum et placées dans un flacon en plastique.

111.2 - Obtention de l'inoculum à partir des fécès

Deux grammes de fécès faîchement prélevées sont mis en suspension dans du tampon phosphate PBS contenant des antifongiques (Fungizone 1 %, Mycostatine 1 %) et des antibiotiques (Gentalline 1 % Vancomycine 1 %). Cette suspension est homogénéisée pendant 3 ou 4 minutes par passage au "masticator" (deux plaques métalliques frappent alternativementle sac contenant le prélèvement fécal et le PBS), puis centrifugée (2000 t/mn pendant 30 mn). Le surnageant est dilué au demi avec le tampon PBS contenant antifongiques et antibiotiques. Cette nouvelle suspension est centrifugée (2000 t/mn, 30 mn). Ce dernier surnageant subit une nouvelle centrifugation si des impuretés macroscopiques fécales y résident encore, sinon, il est dilué au demi dans du milieu de conservation. 1 ml de cette dilution finale au 1/40 sera conservé à - 70°. Le reste sera inoculé tel quel, ou dilué dans du tampon PBS additionné de 1 % de DEAE Dextran.

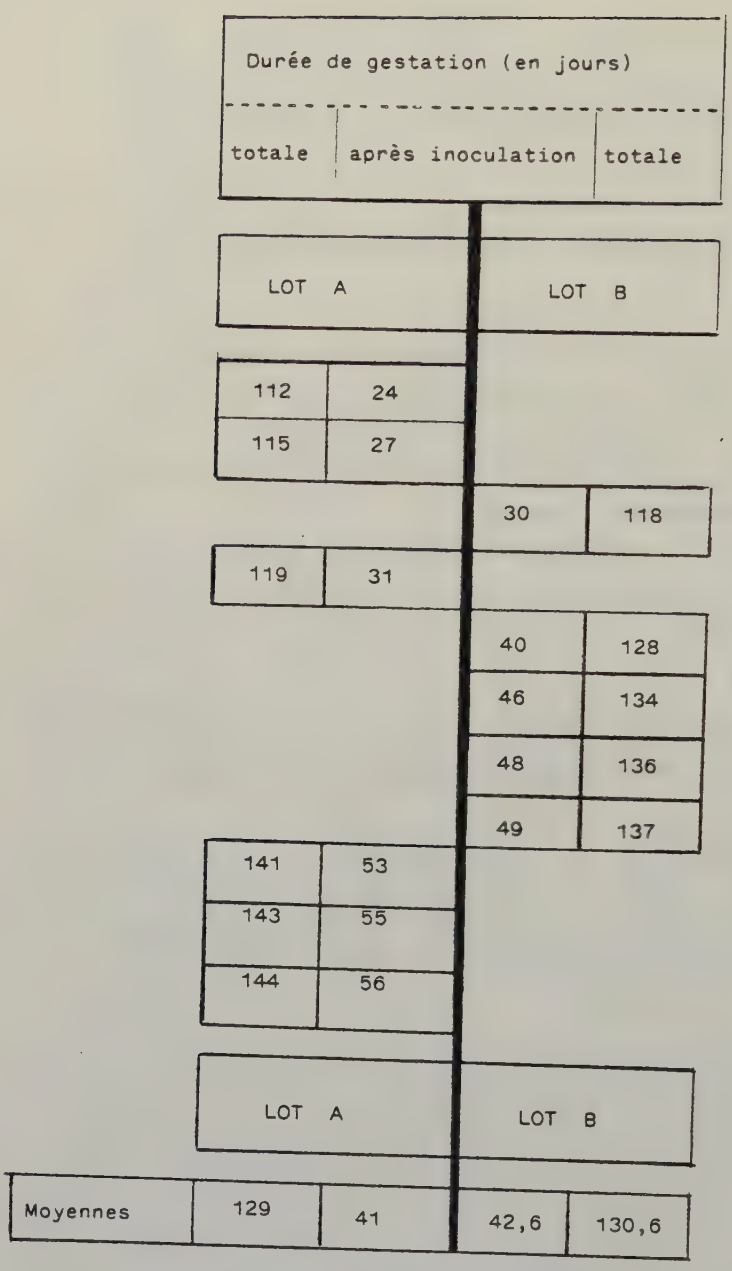


TABLEAU 1 - Durées de gestation, totales et après inoculation, chez des chèvres infectées par voie intra-dermique , au 88° jour de gestation avec 2 10^7 (LOT A) ou 2 10^6 (LOT B) Chlamydia psittaci.

II - RESULTATS ET DISCUSSION -

La présentation des résultats fera apparaître, pour en faciliter l'analyse, l'existence des 2 lots A et B, et l'ordre chronologique des avortements.

L'on rappelle que :

- les chèvres du lot A sont inoculées avec 2.10^7 Chlamydia
- les chèvres du lot B sont inoculées avec 2.10^6 Chlamydia
- l'appellation B 36, par exemple, indique la chèvre du lot B qui a avorté la troisième de son lot, mais la 6ème si l'on considère l'ensemble des 12 chèvres inoculées.
- La chèvre B 00 est non gestante durant l'expérimentation.

21 - DUREE DE GESTATION

Hormis B 00, bien sûr, et B 25 (dont 1 des 2 chevreaux meurt à la mise bas), toutes les chèvres expulsent leurs foetus morts.

Les deux doses d'inoculum entraînent donc 100 % d'avortement.

Les gestations sont interrompues entre le 112° et le 144° jour (tableau 1). Pour mémoire, la durée de gestation normale d'une chèvre est de 146 à 157 jours, avec une moyenne de 150 jours (47).

Dans le lot A, on remarque la succession de deux vagues d'avortement, distantes de plus de 3 semaines (graphique 1). Cet écart important peut provenir de la forte réaction locale qu'ont présentée les 3 chèvres avortant en dernier (tableau 2). Cette inflammation a vraisemblablement fortement freiné la dissémination des Chlamydia dans l'organisme et par là même leur pouvoir pathogène.

Malgré ces trois avortements assez tardifs dans le lot A (141°, 143° et 144° jour de gestation), l'on remarque que la moyenne des durées de gestation des chèvres de ce lot, inoculées avec 2.10^7 Chlamydia psittaci est significativement inférieure à celle des chèvres n'ayant reçu que 2.10^6 germes abortifs. (129 jours contre 130,6 jours).

En parallèle, l'intervalle inoculation - avortement (tableau 1) varie :

- de 24 à 56 jours dans le lot A, avec une moyenne de 41 jours.

- de 30 à 49 jours dans le lot B avec une moyenne de 42,6 jours.

Il est impossible d'apporter une appréciation quantitative et d'effectuer des comparaisons dans ce domaine. L'on peut seulement supposer que les résultats dépendent de l'espèce inoculée, de la souche, de la voie d'injection, du stade de gestation ...

22 - DUREE DE RETENTION DES FOETUS MORTS

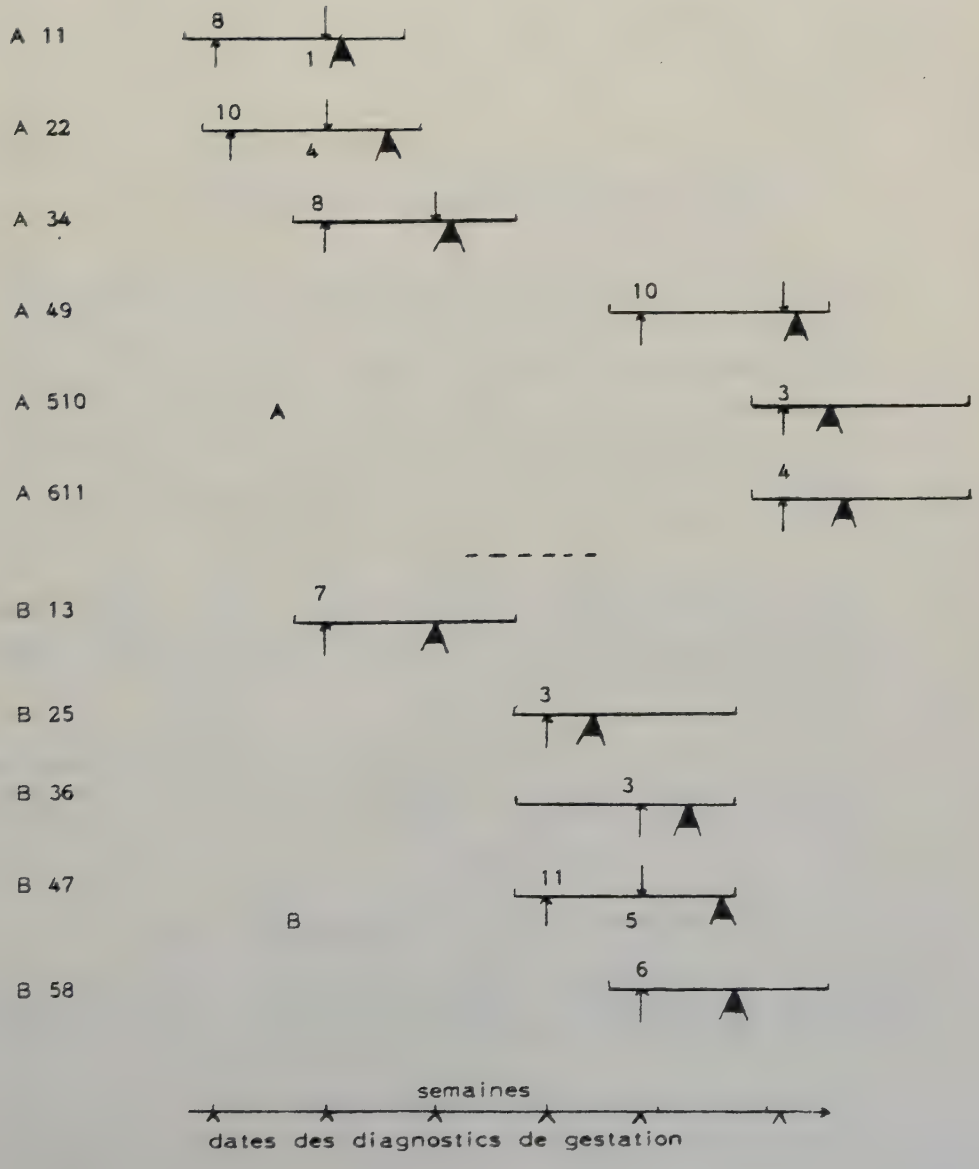
Du fait de la séquence uniquement hebdomadaire des diagnostics de gestation, les résultats sont assez imprécis dans leur interprétation.

Le diagnostic de mort foetale n'a été porté, avant l'avortement que sur 5 des 11 chèvres (graphique 1) :

- la veille pour A 11, A 34 et A 49
- 4 jours avant pour A 22
- 5 jours avant pour B 47

On peut donc affirmer qu'une chèvre peut garder des foetus morts in utero pendant au moins 5 jours. Mais A 10 et B 36 prouvent que l'expulsion peut être beaucoup plus rapide car 3 jours avant d'avorter, un de leurs foetus était encore vivant

GRAPHIQUE 1 : RÉSULTATS DES DIAGNOSTICS DE GESTATION, PAR EFFET DOPPLER, EXPRIMANT L'EXISTENCE (↑) OU L'ABSENCE (↓) DE VIE FOETALE LES JOURS PRÉCÉDANT L'AVORTEMENT (⊼) DE CHÈVRES, APRÈS INOCULATION DE 2.10^7 (GRAPH. 1 A) OU 2.10^5 (GRAPH. 1 B) CHLAMYDIA PSITTACI PAR VOIE INTRA-DERMIQUE.



De plus, si l'on exclut B 25, dont 1 chevreau était vivant à la mise bas, 5 chèvres sur 10 n'ont pas gardé de foetus mort in utero plus de 6 jours.

En conclusion, les chevreaux morts sont évacués dans des délais brefs, de l'ordre de 3 - 4 jours.

23 - REACTION FEBRILE A L'INOCULATION -

Avant l'expérimentation, la température rectale des chèvres est normale, c'est-à-dire comprise entre 39° et 40° C.

Après inoculation, toutes les chèvres présentent une inappétence (cependant plus marquée dans le lot A) qui s'accompagne de symptômes fébriles le 3° jour.

Dès la 18° heure, le lot A présente une hyperthermie qui persiste 3 jours au-dessus de 40°3 C (figure 1 A). La moyenne des températures atteint son apogée, 40°9 C, 3 jours après l'inoculation. Individuellement la température maximale relevée chez la chèvre A 34 atteint 41°8 C. La température dépasse 40°5 C chez toutes les chèvres pour redescendre (sauf chez A 49) sous 39° C, avec un minimum de 38°2 C pour A 34.

Cette hypothermie dure au moins 2 jours. La température n'est stabilisée au-dessus de 39° C que le 10° et dernier jour des relevés thermiques.

Pour le lot B, l'hyperthermie est moins forte et décelable seulement 24 h. après l'inoculation, se traduisant par un pic d'une journée et demi au-dessus de 40° C (figure 1 B).

B 47 ne dépasse pas les 40° C, mais B 36 atteint 41°2 C.

Après une hypothermie fugace, une nouvelle hyperthermie semble poindre : 40° C pour B 47, 39°8 C pour B 36, B 58 et B 00,

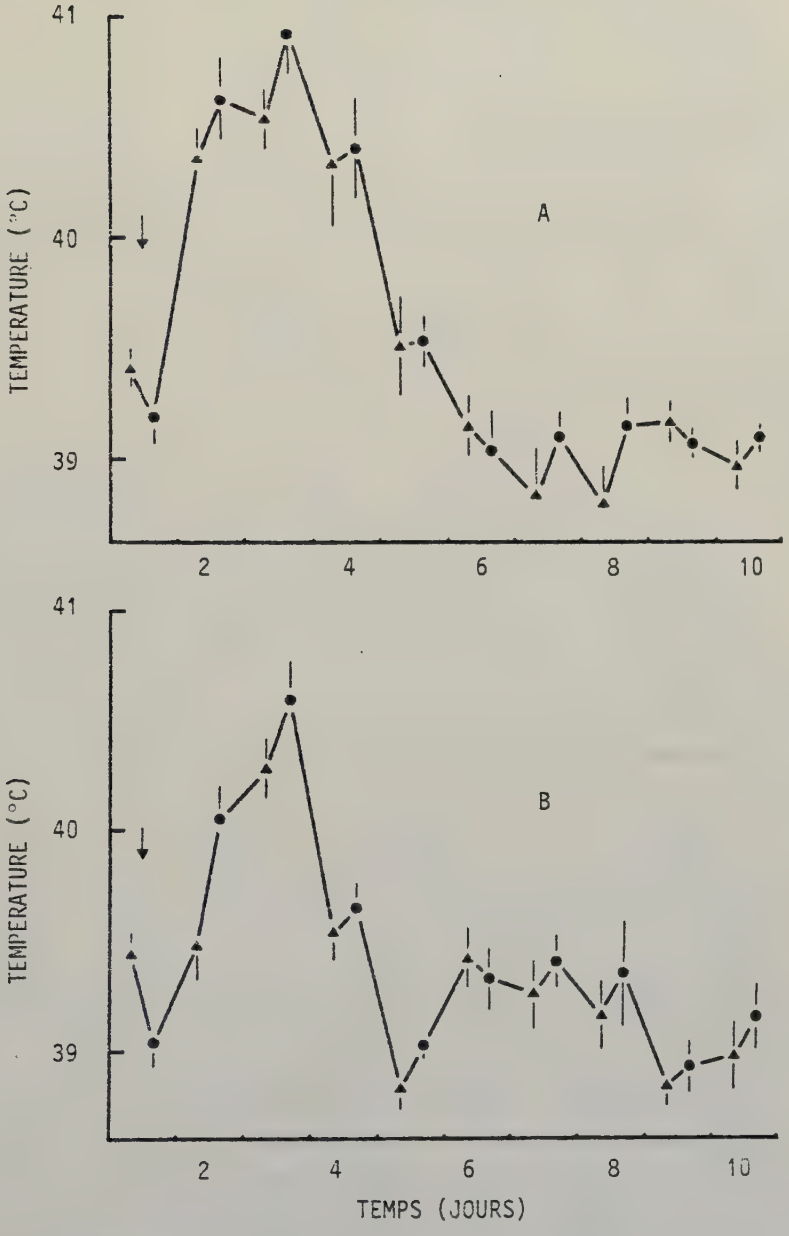


Fig. 1 : Moyennes des températures rectales, prises matin (▲) et soir (•), après inoculation intradermique (↓) de 2.10^{7} (Fig. 1A) ou 2.10^{6} (Fig. 1B) Chlamydia psittaci chez des chèvres .

mais la courbe moyenne n'atteint que 39° 4 C. On ne peut donc parler sérieusement d'un second pic thermique.

24 - SYMPTOMES -

Ceux-ci sont étudiés chronogiquement pour discerner les signes annonciateurs de l'avortement et les complications possibles.

* Bien avant la période abortive

5 catégories de symptômes ont été notés :

- des réactions locales au point d'inoculation apparaissent en 5 à 7 jours. Cette induration blanchâtre, douloureuse, ayant la forme d'un cercle de 2 cm de diamètre correspond à la surface d'injection de l'inoculum dans le derme. Très prononcée le 10° jour, elle s'amplifie encore pendant une semaine chez A 49, A 510, A 611 (tableau 2).
- Une hypertrophie mammaire très nette, avec production lactée, débute dès le 98° jour de gestation, c'est-à-dire 10 jours après l'inoculation chez A 34, A 49, A 611 et B 25 (tableau 3). La recherche de Chlamydia dans un prélèvement de lait de A 34 s'est révélée négative par la technique des plages de lyse.
- deux cas de toux durables, à savoir près d'un mois chez A 49, près de 2 mois chez B 58, sont notés respectivement 2 et 4 jours après l'inoculation.
- le diagnostic d'arthrite a pu être porté au niveau :
  .du carpe chez A 34 et A 611, 3 semaines après l'inoculation. L'articulation est restée chaude et enflée près d'une semaine, puis seule l'hypertrophie a subsisté.
  .du jarret chez B 47, 1 mois après l'inoculation.
  .Des difficultés ambulatoires au niveau des postérieurs ont été remarquées chez B 25, 8 jours après l'inoculation.

Aucun diagnostic étiologique n'a été entrepris.

TABLEAU 2.

SYMPTÔMES DES CHÈVRES DU LOT A, APRÈS INOCULATION INTRA-DERMIQUE DE 2.10^7 CHLAMYDIA PSITTACI.

	Réaction au point d'injection.	Symptômes avant l'avortement	Ecoulements vulvaires pré-abortifs	Rétention foetale(b)	Expulsion du délivre	Altération de l'état général après l'avortement.
A 11	+(a)	-	1 jour	1 à 8 j	+ ?	-
A 22	+	-	-	4 à 10 j	- ?	Self auscultation. Isolée Lombes voûtées Vulve très souillée
A 34	+	Arthrite du carpe Pis hypertrophié (c)	-	1 à 8 j	+	-
A 49	+ + +	Toux dès inoculation Pis hypertrophié	1 jour	1 à 10 j	- ?	-
A 510	+ +	-	-	< 3 j	-	Métrite (c) décelée 12 j. après avortement.
A 611	+ + +	Kératoconjonctivite(c) unilatérale pendant 6 jours. Arthrite du carpe Pis hypertrophié	1 jour	< 4 j	+	Mort 14 j. après avortement Aucun symptôme annonciateur Mammite à Corynebactérium.

(a) + = décoloration de la peau, dépilation, sans croûte

+ + = décoloration de la peau avec croûte apparente

+ + + = croûte très développée.

(b) durée de rétention, en jours, du dernier foetus mort

(c) aucune mise en évidence de Chlamydia sur culture cellulaire.

- Une kératoconjonctivite de l'oeil droit a affecté A 611, 3 jours après l'inoculation, pour régresser au bout de 6 jours. Un écouvillon de la chassie oculaire n'a pas permis la mise en évidence de Chlamydia.

* Durant la période pré-abortive

Quelques plaintes douloureuses (chez 2 chèvres) et de légers écoulements vulvaires, non pathognomoniques (chez 4 autres) sont perceptibles la veille de l'expulsion foetale.

Seules A 49 et B 47 ont présenté des prodromes plus distincts:

- A 49 , car un très abondant mucus s'échappait de la vulve
- A 47, car ses pertes vulvaires ont débuté 5 jours avant l'avortement, date à laquelle, d'ailleurs, un diagnostic de gestation négatif était porté.

* Au moment de l'avortement

- 9 des 11 chèvres ne semblent guère affectées.

Le diagnostic d'avortement est néanmoins facile (même si le troupeau est très important et que les foetus ne peuvent être retrouvés) car les régions vulvaires sont alors très souillées du fait de l'abondance des lochies. Ces lochies présentent le plus souvent une couleur brun chocolat assez caractéristique.

- A 22 présente une baisse de l'état général, suite à une expulsion tardive de ses foetus morts, suivie d'une probable rétention placentaire.

- B 25, elle, est beaucoup plus abattue et laisse croire quelques jours à une issue fatale. Aucune raison n'a pu être retenue pour expliquer cette grave atteinte : ni le placenta (expulsé normalement), ni les foetus (dont l'un était d'ailleurs vivant à la mise bas) n'étaient altérés. Les symptômes pré-abortifs ont été très succincts.

TABLEAU 3

SYMPTÔMES DES CHÈVRES DU LOT B, APRÈS INOCULATION INTRA-DERMIQUES DE $2,10^6$ CHLAMYDIA SPITTACI

	Réaction au point d'injection	Symptômes avant l'avortement	Ecoulements vulvaires pré-abortifs	Rétention (b) foetale	Expulsion du délivre	Altération de l'état général après l'avortement
B 13	+ (a)	-	1 jour	< 7 j	+	-
B 25	+	Troubles locomoteurs du train arrière Pis hypertrophié	-		+	Trés abattue Flancs creusés Anorexie pendant 2 jours.
B 36	+	-	1 jour	< 3 j	+	-
B 47	+	Arthrite du jarret	5 jours	5 à 11 j	+	-
B 58	+	Toux dès inoculation	-	< 6 j	- ?	Métrite (c) décelée 18 j après avortement.

(a) + = décoloration de la peau, dépilation, sans croûte

+ + = décoloration de la peau avec croûte apparente.

+ + + = croûte très développée

(b) durée de rétention, en jours, du dernier foetus mort

(c) Aucune mise en évidence de Chlamydia sur culture cellulaire.

* Deux semaines après l'avortement

3 autres chèvres sont à leur tour perturbées, sans avoir laissé paraître de quelconques manifestations cliniques jusque-là.

- B 56 et A 510 présentent une métrite suppurative (doù aucune Chlamydia n'a pu être isolée) suite à une rétention placentaire.

Finalement, seules des 5 chèvres dont le placenta n'a pa été retrouvé, A 11 et A 49 n'ont pas souffert de métrite, ce qui laisse à penser qu'elles ont bien délivré. Donc 3 chèvres sur 11 ont présenté une rétention placentaire pendant cette expérimentation.

- A 611 meurt subitement 14 jours après avoir avorté. L'autopsie n'a révélé aucune lésion, si ce n'est une congestion pulmonaire (à rattacher à la période agonique) et une mammite unilatérale à Corynebactérium. Des broyats d'organes (foie, rate, utérus et ovaires, poumon, duodénum, jéjunum, iléon, colon, ganglions mésentèrique et rétromammaire) sont inoculés sur cellules, mais aucune plage de lyse n'est décelée.

En conclusion, 6 chèvres sur 11 supportent parfaitement bien leur avortement, même si celui-ci survient tardivement après la mort des foetus (B 47) ou est précédé d'écoulements vulvaires abondants (A 49 et B 47).

25 - SEROLOGIE -

Il est intéressant de noter, de prime abord, la présence, avant inoculation, d'anticorps antichlamydia fixant le complément dans tous les sérums étudiés (figures 2 et 3).

Ces titres sériques faibles (de 20 + à 40 +) décelés en quasi permanence dans les cheptels ovin et caprin français, attestent d'une chlamydiose intestinale latente.

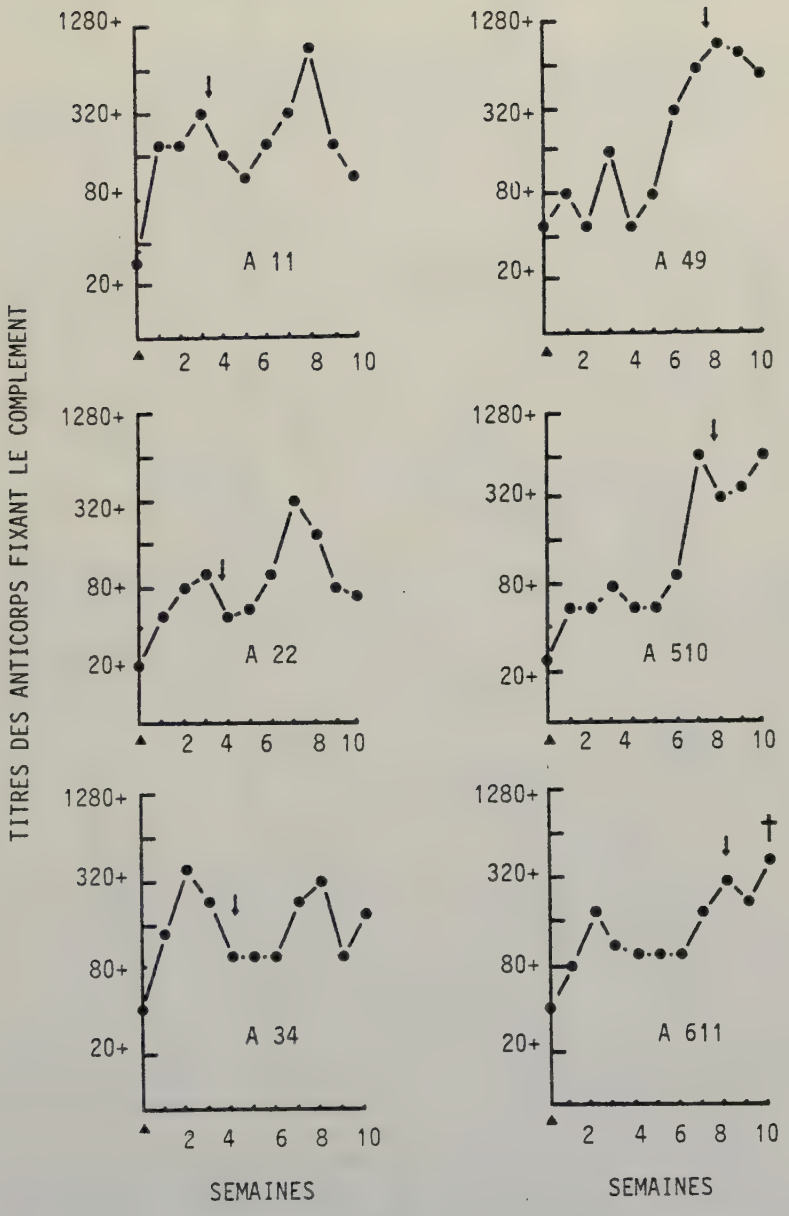


Fig. 2 : Cinétique des anticorps fixant le complément chez les chèvres du lot A après inoculation intradermique de 2.10^7 Chlamydia psittaci .

▲ : inoculation; ↓ : avortement; † : mort de A 611.

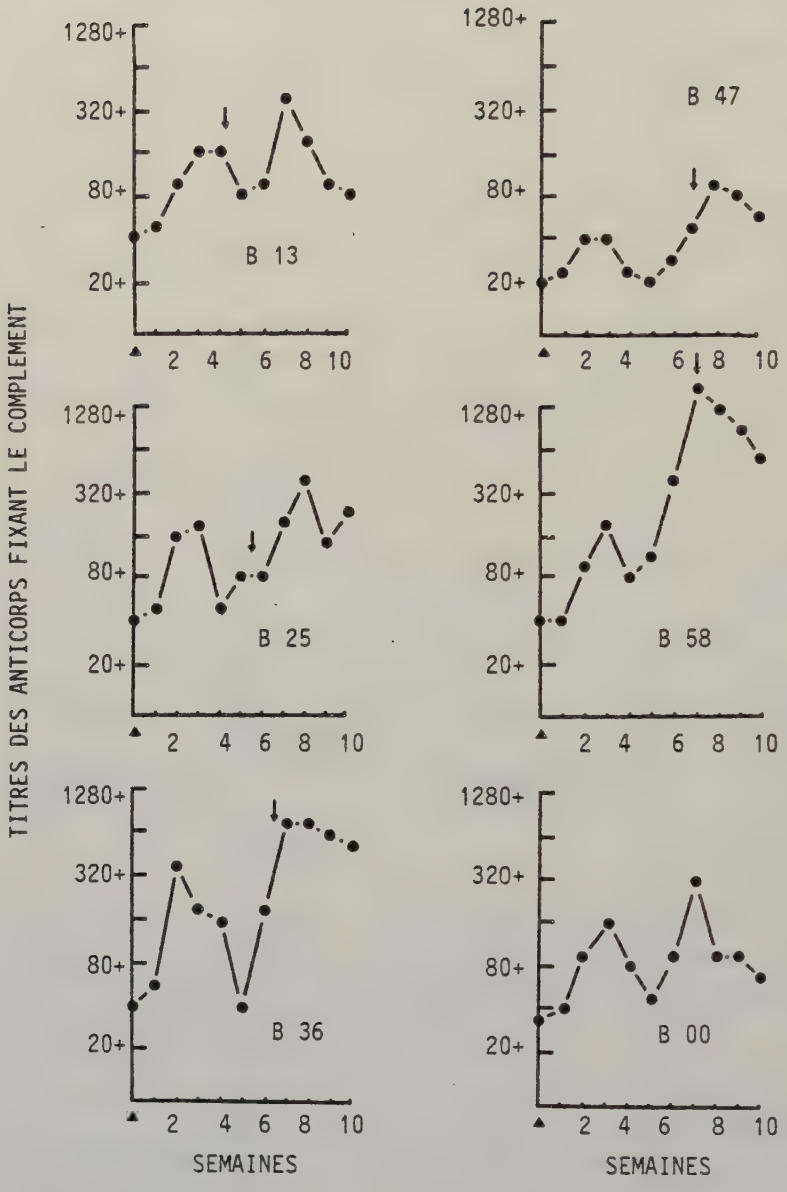


Fig. 3 : Cinétique des anticorps fixant le complément chez les chèvres du lot B après inoculation intradermique de 2.10^6 Chlamydia psittaci .

▲ : inoculation ; ↓ : avortement

De ce fait, seuls sont considérés significatifs en chlamydiose abortive des petits ruminants, des titres en anticorps fixant le complément supérieurs ou égaux à 80 +.

Il faut rappeler qu'il n'existe aucune corrélation entre la présence d'anticorps fixant le complément et la résistance à l'infection chlamydienne.

Autre point très marquant à la lecture des cinétiques : après inoculation, les courbes moyennes des sérologie sont très superposables pour les deux lots (figure 4).

La seule différence notable réside dans l'apparition plus précoce d'anticorps sériques chez le lot A : une semaine après l'inoculation, la moyenne des titres sériques dépasse 80, alors qu'elle est voisine de 40 pour le lot B.

Individuellement, la différence est cependant plus grande A 11 présente un titre sérique qui croît durant la première semaine de 20 3 + à 160 2 + (figure 2) alors que celui de B 36 passe de 40 1 + à 40 3 + (figure 3).

Mais ensuite, les courbes sérologiques sont très similaires et seront donc décrites ensemble. Elles présentent toutes :

- un premier pic, la deux ou troisième semaine
- une décroissance la quatrième ou cinquième semaine
- un second pic plus élevé que le premier (sauf pour A 34) la huitième ou neuvième semaine.

Si l'aspect des courbes est stéréotypé, les titres sériques présentent néanmoins des variations individuelles :

.seule B 47 présente des titres sériques faibles :
- 40 1 + pour le premier pic
- 20 1 + pour le minimum de la 5ème semaine
- 80 2 + pour le second pic.

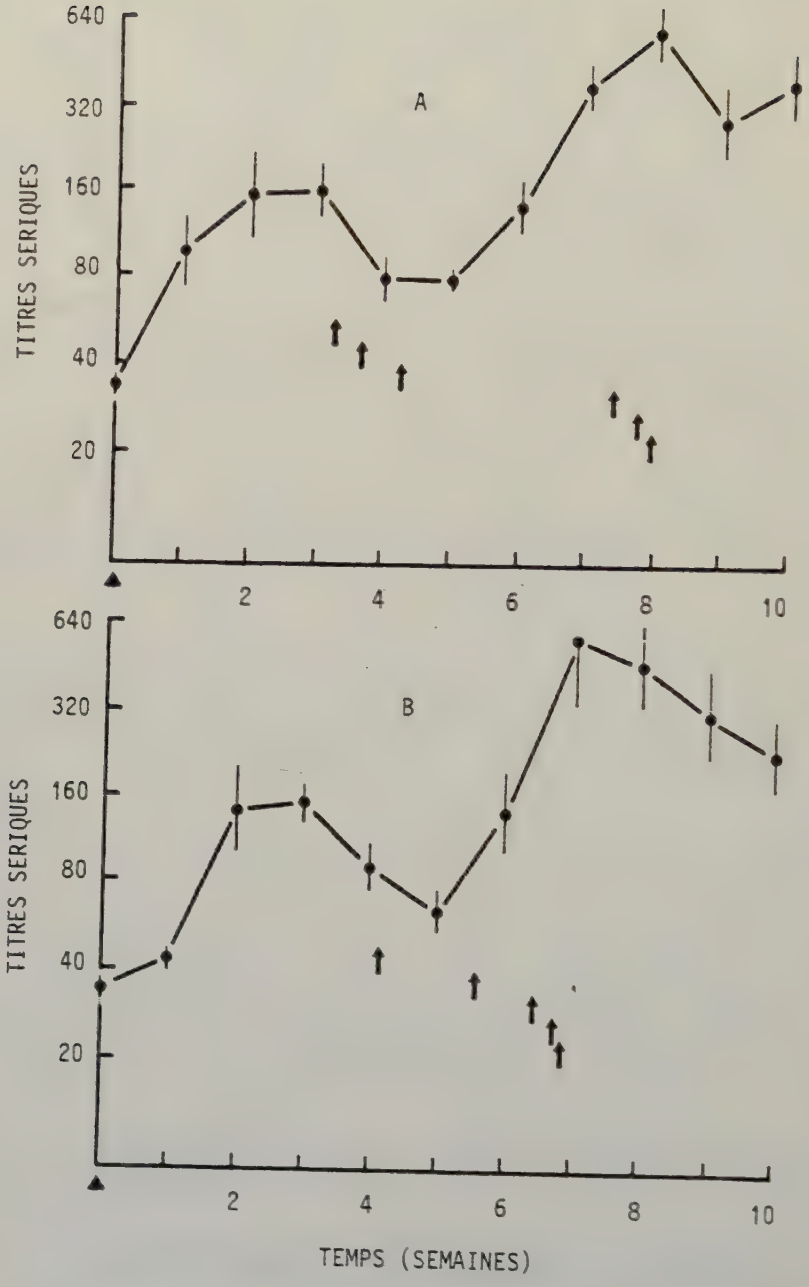


Fig. 4 : Moyennes des titres en Anticorps fixant le complément chez des chèvres après inoculation intradermique de 2.10^7 (Fig. 2A) ou 2.10^6 Chlamydia psittaci (Fig. 2B)
▲ : inoculation - ↑ : avortement .

.pour les autres chèvres, les titres sont nettement plus élevés

- lors du premier pic, ils sont compris entre 160 1+ et 320 2 + (sauf A 510, 80 1 + et A 22, 80 2 +)
- pendant la décroissance, ils retombent entre 40 1 + et 80 2 +
- lors du second pic, ils atteignent 320 1 + à 1280 3 +.

En conclusion, la très grande similitude entre les cinétiques individuelles des anticorps sériques fixant le complément s'oppose d'emblée à l'étalement très irrégulier des avortements dans le temps. D'ailleurs, même B 00, non gestante présente des titres sériques identiques à ceux de ses compagnes.

Cela appuie bien le fait qu'avortement et cinétique des anticorps sont sans rapport. D'ailleurs, les avortements (figures 2 et 3) peuvent être :

. soit suivis

- d'une augmentation des anticorps sériques : B 25, B 47
- d'une diminution de ces anticorps : A 11, B 58

.soit précédés :

- d'une augmentation des anticorps : B 58
- de leur diminution : A 34

En effet, les avortements s'échelonnent sur deux tracés sérologiques quasi identiques comportant deux pics successifs (figure 4).

Néanmoins, nombre d'auteurs affirment que l'avortement est toujours suivi d'une montée des anticorps. Il en est ainsi généralement dans les maladies abortives et cette théorie est devenue vérité première.

Pourtant, FUENSALIDA-DRAPER et RODOLAKIS (32) obtiennent

des résultats similaires aux nôtres après inoculation intraveineuse de brebis à 70 jours de gestation :

- ils constatent deux pics sériques successifs 2 et 8 semaines environ après inoculation

- le second pic se situe une ou deux semaines avant ou après l'avortement.

En effet, la date du second pic est à peu près fixe, alors que les avortements s'étalent entre 30 et 68 jours après l'inoculation.

La présence de ces 2 pics doit aussi être analysée :

- le premier pic est d'évidence une réponse de l'organisme à l'inoculation intradermique. En outre, la rapidité et l'intensité de cette réponse suffisent à la qualifier d'anamnestique. L'existence du faibles titres sériques avant inoculation, témoins d'une chlamydiose intestinale latente, en est l'explication.

- le second pic apparaît beaucoup plus difficile à interprêter.

*l'hypothèse que cette recrudescence d'anticorps fixant le complément répond à une décharge de Chlamydia, au moment de l'avortement, de l'utérus dans tout l'organisme, ne peut être retenue car :

.avortement et sérologie sont dissociés (ubi supra)
.A 510 avorte après ce second pic
.B 00 non pleine, présente aussi ce second pic.

*il pourrait avoir comme origine la très forte dispersion dans le milieu ambiant, des Chlamydia au moment de l'avortement de chèvres voisines (tableaux 6 et 7). Cette décharge entraîneraît une recontamination des chèvres en contact, qu'elles soient gestantes ou vides (B 00). Pour confirmer cette hypothèse, il faudrait inoculer uniquement des

chèvres vides et étudier la cinétique de leurs anticorps fixant le complément pour vérifier la non présence de ce second pic, en l'absence d'avortement.

26 - FOETUS -

Tous les foetus sont expulsés morts, sauf un mort-né pour B 25 qui a mis bas, au 128° jour de gestation, un chevreau qui n'a survécu que quelques minutes.

Hormis deux foetus décomposés chez A 22 (tableau 4) et chez B 13 (tableau 5), morts très tôt au cours de la gestation (bien avant l'inoculation), les 20 autres foetus présentent un poids normal, eu égard à leur durée de gestation.

Sur ces 20 foetus (12 mâles, 6 femelles, 2 non déterminés):

*10 ne présentent aucune lésion externe ou interne

* 5 ne révèlent que des lésions internes
. 1 présente un début d'autolyse interne
. 2 sont très hyperémiés sans présence d'épanchement
. 1 est anémié
. 1 présente un oedème localisé uniquement à l'estomac.

*Seuls 5 sur 20 ont un aspect extérieur anormal
. 1 est totalement oedématié
. 4 renferment un abondant épanchement sanguin qui les dilate .

Les lésions notées sont donc fort diverses, même découvertes chez les chevreaux provenant d'une même mère, B 36 par exemple (tableau 5).

L'examen des coeurs, des tissus sous-cutanés, et d'organes divers n'a pas permis la mise en évidence de pétéchies . DURAND (21) également souligne l'absence de ces pétéchies sur les avortons de brebis qu'il a étudiés en FRANCE. Pour-

TABLEAU 4

ÉTUDE DES FOETUS ET PLACENTAS DES CHÈVRES DU LOT A, APRÈS AVORTEMENT CHLAMYDIEN

	FOETUS					CALQUES EN BACTERIOSCOPIE			
	Nb	Sexe	Poids	Lésions Macroscopiques	PLACENTA	Foie	Rate	Poumon	Autres
A 11	M	n d	900 g	-	Expulsé ?				Tissus + sous-cutanés
A 22	d	? ?	100 g	Squelettes seuls intacts	non expulsé ?				Tissus + sous cutanés
	M	n d	1,3 Kg	-					
A 34	M	o	1,2 Kg	-	"Crême" marron en plages de 3 cm				"crême" + houppes + choriales
	M	o	1 Kg	-					
A 49	M	♀	2 Kg	Foetus congestionnés Liquide hémorragique intra-thoracique	Expulsés ?	+	+	+	
	M	♀	2 Kg						
A 510	M	♀	3 Kg	Liquide stomacal oedèmateux	Non expulsés	+	+	+	
	M	♀	1,6 Kg	-		+	+	+	
A 611	M	o	2,5 Kg	Hépatomégalie par congestion Poumons hyperémiés Rein pulpeux	Hémorragie en plages Hile ombilical oedématié Fibroses localisées Houppes choriales	+	+	+	
	M	o	2 Kg			?	+	+	
	M	♀	1,5 Kg	-					

M : mort récente; d : décomposés; n d : sexe non déterminé; ? ? : sexe indéterminable.

tant dans les publications américaines, ces pétéchies sont quasi constantes. Les rares lésions présentées par les foetus ne sont donc absolument pas caractéristiques. L'absence même de ces lésions, dans 1 cas sur 2, suffit à attester qu'elles ne sont pas à l'origine de la mort des foetus. Néanmoins la septicémie foetale est de règle car la coloration de STAMP modifiée révèle la présence de Chlamydia sur tous les frottis effectués (2 douteux, 40 positifs).

27 - PLACENTAS -

Malgré l'expulsion de 20 foetus, 8 placentas seulement ont pu être examinés (tableaux 4 et 5) car :

. 2 placentas n'ont pas été expulsés
. 5 n'ont pas été trouvés (dont 2 sûrement non expulsés)
. 5 n'ont pu être étudiés, car très souillés et déchirés.

Sur ces 8, 2 ne semblent pas altérés macroscopiquement.

Miais les autres possédent des houppes choriales, soit nécrosées, gris pâle, molles, soit épaissies, rouge sombre, consistantes.

Une solidité accrue de l'amnios est nettement visible sur 2 placentas. Ceux-ci enveloppent d'ailleurs les foetus qui n'ont pas pu les rompre.

On découvre alors, accollés aux poils foetaux, des amas crémeux de couleur marron foncé ou clair, qui ont l'aspect de mousse au chocolat ou au café. Ces productions inodores sont, nous le rappelons l'addition d'un important exsudat utérochorial mêlé à des globules rouges lysés, des cellules trophoblastiques de l'épithélium chorionique, des cellules inflammatoires et bien sûr des corps élémentaires.

Ce sont elles qui donnent aux lochies leur coloration particu-

TABLEAU 5 : ÉTUDE DES FOETUS ET PLACENTAS DES CHEVRES DU LOT B, APRÈS AVORTEMENT CHLAMYDIEN

	FOETUS				PLACENTA	CALQUES EN BACTERIOSCOPIE			
	Nb	Sexe	Poids	Lésions Macroscopiques		Foie	Rate	Poumon	Autres
B 13	m m	? ? ? ?	200 g	Décomposition modeste	Délivre complète peu altérée Villosités choriales marron clair peu consistantes, en début de nécrose				Houppes choriales +
	M	♂	2 Kg	Dégénérescence hépatique Epanchement abdominal et intrathoracique		+	+	+	
	M	♂	1,8 kg	Organes congestionnés Epanchement sanguin dans les cavités internes					
B 25	MN	♂	2,4 kg	-	Non altérés	+	+	+	
	M	♂	1,8 kg	-		?	+	+	
B 36	M	♀	1,8 kg	Congestion généralisée		+	+	+	
	M	♂	2,4 kg	Oedème généralisé	Oedématié	+	+	+	Oedème +
	M	♀	1,3 kg	Anémié presque ictérique	Amnios solide Larges ilots de "crême" jaunâtre	+	+	+	
B 47	M	♀	1,8 kg	-	Amnios très solide Amas de "crême" marron foncé	+	+	+	
B 58	M	♀	2,2	Hémopéricarde Organes autolysés.	Non expulsé ?	+	+	+	

m : mort très ancienne; MN : mort-né; M mort récente; ? ? : sexe indéterminable.

lière.

Ces amas visibles sur les foetus, donc intra-amniotiques, n'ont pu être mis en évidence à l'extérieur du placenta, au niveau du chorion inter-cotylédonnaire. Néanmoins, la présence de ce matériel brunâtre dans les lochies, après l'expulsion placentaire, prouve que ce mucus tapisse également l'utérus et était donc présent au niveau de l'espace utéro-chorial.

Des frottis de houppes choriales et d'un de ces amas crêmeux attestent, après coloration de STAMP, de leur très grande richesse en Chlamydia.

28 - EXCRETION VAGINALE DE CHLAMYDIA VIVANTES -

La quantité de Chlamydia excrétées le jour de l'avortement (J) et les 2 jours suivants (J + 1, J + 2) est impressionnante, quelque soit la chèvre.

Le jour d'excrétion maximale est le jour même de l'avortement, où les quantités extrêmes de Chlamydia titrées, sans congélation préalable, sont :

- $3\ 10^8$ pour A 611 (tableau 6)
- $4\ 10^3$ pour A 49

et, ce dans 1 seul ml d'inoculum d'origine vaginale.

L'importance des lochies post-abortives laisse supposer que la quantité réelle de Chlamydia vivantes excrétées, est infiniment supérieure.

Les numérations, effectuées les 2 jours suivants sont irrégulièrement décroissantes. Il faut noter que tous les écouvillons réalisés sur B 00 (qui n'a pas avorté) étaient exempts de Chlamydia.

TABLEAU 6 : NOMBRE DE CHLAMYDIA VIVANTES PAR ML D'INOCULUM OBTENU A PARTIR D'ECOUVILLONS VAGINAUX REALISES AU MOMENT DES AVORTEMENTS SUR LES CHEVRES DU LOT A, APRES INOCULATION INTRA-DERMIQUE DE 2.10^7 CHLAMYDIA PSITTACI.

	J-9	J-1	J[a]	J + 1	J + 2	J + 4	J + 5
A 11		1C 10^5 2C 2.10^4	F_o(b) 2.10^6 1 C 10^6	1 C 10^4	1 C 10^3		
A 22			2 C 2.10^3	1 C 10^3	1 C 7.10^3		
A 34			1 C 8.10^6	1 C 4.10^5 F_o 10^5 F_{12} 10^4	1 C 10^4 F_{11} 10^4		
A 49			F_o 4.10^3	F_2 3.10^3	F_1 5.10^3		
A 510	F_o 5.10^2		F_1 4.10^4	F_2 10^4	F_o 10^3		F_o 10^3
A 611			F_1 3.10^8	F_2 5.10^4	F_1 2.10^5	F_o 3.10^4	

a : J = jour de l'avortement
b : 1 C : Inoculum congelé avant mise en culture cellulaire
2 C : Inoculum congelé 2 fois avant mise en culture
F_o : Mise en culture le jour du prélèvement
F_1, F_2, F_3 ... : 1, 2,3 ... jours à + 4° C avant mise en culture.

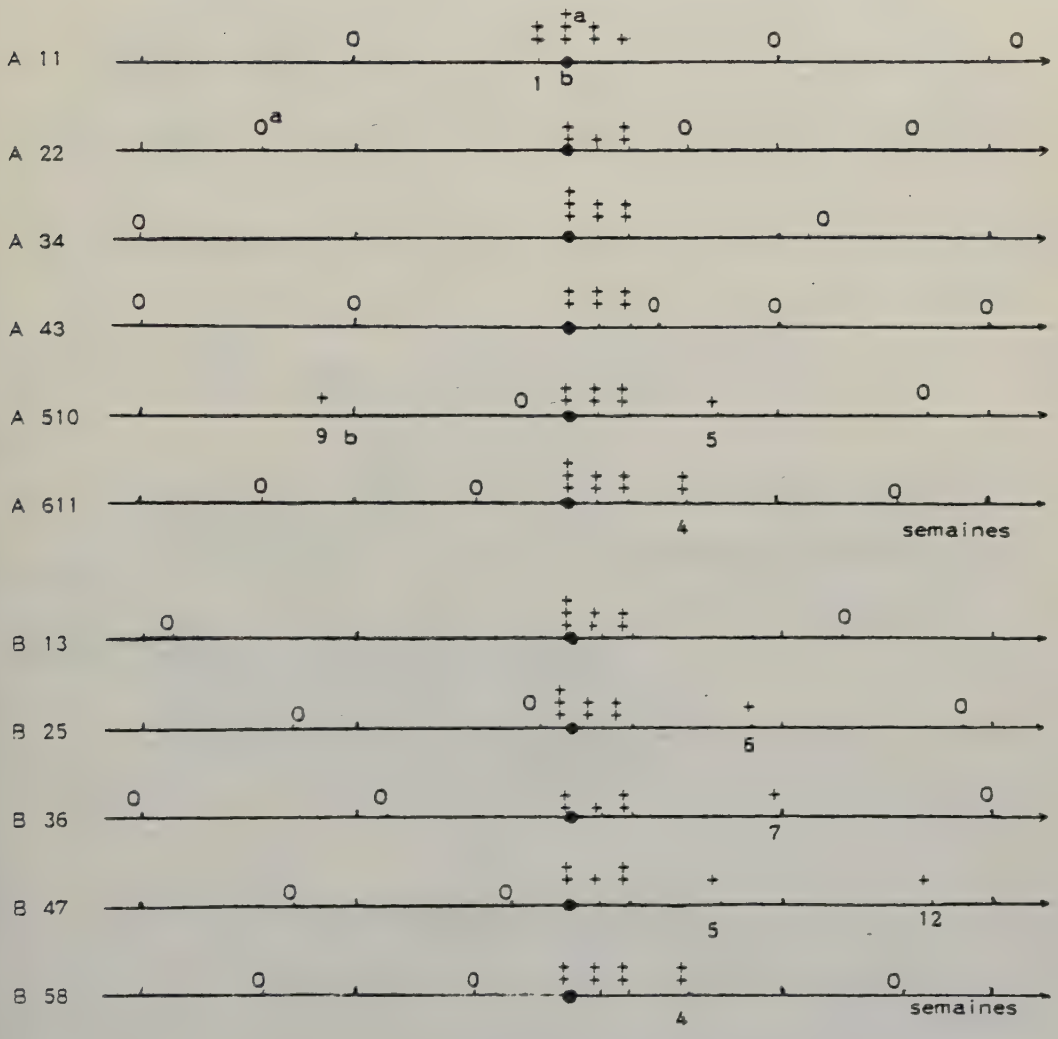
TABLEAU 7 : NOMBRE DE CHLAMYDIA VIVANTES PAR ML D'INOCULUM OBTENU A PARTIR D'ECOUVILLONS VAGINAUX REALISES, AU MOMENT DES AVORTEMENTS, SUR LES CHEVRES DU LOT B, APRES INOCULATION INTRADERMIQUE DE 2.10^6 CHLAMYDIA PSITTACI.

	J[a]	J+1	J+2	J+4	J+5	J+6	J+7	J+12
B 13	1Cb[b] 2.10^7	1C 5.10^5	F_o 10^4					
	2C 10^5		F_{12} 10^3					
B 15	F_4 10^7	F 10^4	F_2 4.10^3			F_o 10		
B 36	F_o 8.10^5	F_3 5.10^2	F_2 10^4				F_o 2	
B 47	F_2 2.10^4	F_1 10	F_o $1,5.10^4$		F_o 4.10^2			F_o 10^2
B 58	F_1 2.10^5	F_o $1,5.10^4$	F_2 $1,5.10^4$	F^o 2.10^4				
B 00	NON AVORTE							

a : J = jour de l'avortement

b : 1 C : Inoculum congelé avant mise en culture cellulaire
2 C : Inoculum congelé 2 fois avant mise en culture
F_o : Mise en culture le jour du prélèvement
F_1, F_2, F_3 ... : 1, 2,3 ... jours à + 4° C avant mise en culture.

GRAPHIQUE 2 : RICHESSE ET FREQUENCE DE L'EXCRETION VAGINALE DE CHLAMYDIA AVANT, APRES ET LE JOUR MEME (●) DE L'AVORTEMENT, CHEZ LES CHEVRES INOCULEES AVEC 2.10^7 (GRAPH. 2 A) ou 2.10^6 (GRAPH. 2 B) CHLAMYDIA PSITTACI.



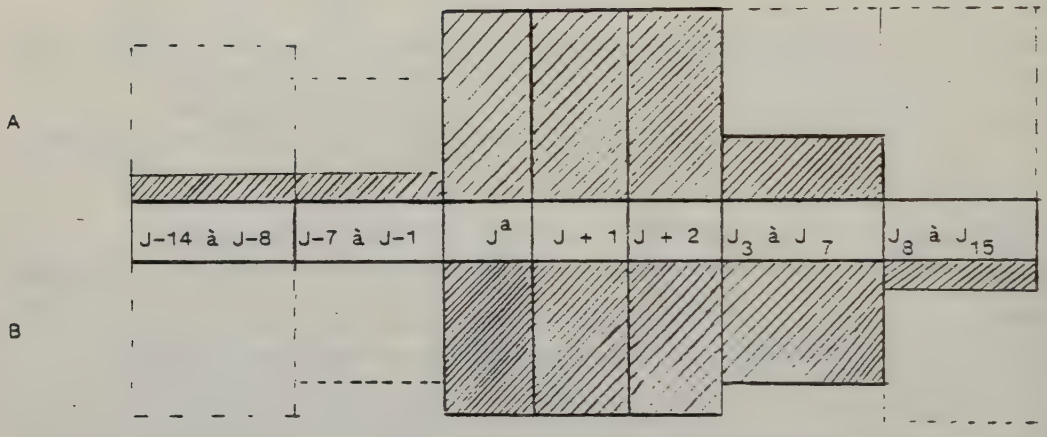
a : Nombre de Chlamydia mises en évidence par ml d'inoculum d'origine vaginale : - 0 : culture cellulaire négative

$$- < + < 10^3 < \overset{+}{+} < 10^6 < \overset{+}{+}$$

b : Nombre de jours avant ou après avortement.

TABLEAU 8

FREQUENCE DE L'EXCRETION VAGINALE DE CHLAMYDIA (EN FONCTION DU NOMBRE D'ECOUVILLONS PRATIQUES PAR LOT) CHEZ DES CHEVRES INOCULEES AVEC 2.10^7 (TABLEAU 8 A) OU 2.10^6 (TABLEAU 8 B) CHLAMYDIA PSITTACI



a : J = jour de l'avortement.

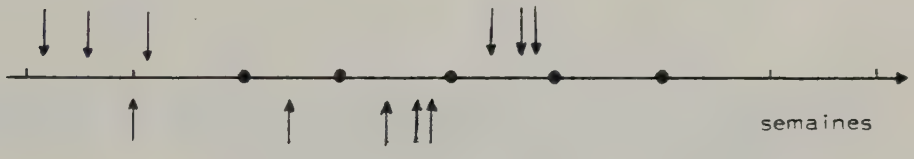
- La durée d'excrétion est donc, au minimum, de 3 jours. Mais des Chlamydia ont pu être mise en évidence dans des écouvillons vaginaux pratiqués 9 jours avant (tableau 6) et 12 jours après l'avortement (tableau 7)

- La fréquence d'excrétion doit cependant être étudiée, pour ne pas extrapoler les résultats précédents et prendre en considération le rythme et la date des prélèvements vaginaux (graphique 2). La contamination du milieu extérieur est pratiquement maximale toute la semaine suivant l'avortement, mais peut se poursuivre la seconde semaine (1 chèvre sur 11) (tableau 8).

La possibilité d'excrétion vaginale, la semaine précédant l'avortement (1 chèvre sur 8) et même deux semaines avant (1 chèvre sur 10) rend les chèvres dangereusement contagieuses avant l'apparition de tout prodrôme abortif.

29 - ABSENCE DE CHLAMYDIA VIVANTES DANS LES FECES -

Aucune Chlamydia n'a pu être isolée des excréments, quelque soit le laps de temps entre avortement et prélèvement fécal:



↓ Avortement d'une chèvre du lot A
↑ Avortement d'une chèvre du lot B
● Prélèvements fécaux des 12 chèvres, exempts de Chlamydia.

Chez les ovins, des Chlamydia ont été mises en évidence dans les fécès de brebis ayant avorté (STORZ, 1966).

L'absence de Chlamydia dans les fécès des chèvres étudiées est assez surprenante car :

.l'inoculation intra-dermique est suivie d'une chlamydémie qui permet l'infection de tous les organes, dont l'utérus mais aussi l'intestin.

.les chèvres ont été en contact direct avec d'autres avortant et ont donc pu se contaminer facilement per os.

Peut-être l'existence de paratuberculose, qui modifie l'histologie et les défenses locales de l'intestin est-elle à l'origine de cette absence de Chlamydia vivantes dans les fécès ? Mais elle n'affectait que quelques chèvres. Plus pragmatiquement, la difficulté d'inoculer des cultures cellulaires avec un matériel aussi contaminé que les fécés, peut expliquer l'étrangeté des résultats.

En conclusion, l'avortement provoqué, par inoculation intra-dermique de Chlamydia psittaci, réalisé pour la première fois chez la chèvre, lors de mon stage à l'I.N.R.A. de TOURS-NOUZILLY, a permis de nombreuses observations "sur le terrain" (relevés thermiques, examens cliniques, diagnostics de rétention foetale, autopsies), mais aussi des analyses de laboratoire en grand nombre (sérologies, cultures systématiques sur cellules de prélèvement vaginaux et fécaux, bactérioscopie de calques d'organes foetaux).

Les résultats obtenus, permettent malgré un effectif assez restreint de 12 chèvres (dont 11 pleines) de contribuer à l'étude des quatre pôles d'intérêt suivants :

*Existence d'un effet dose dans la chlamydiose expérimentale caprine, et détermination d'un inoculum provoquant 100% d'avortement.

-Une corrélation entre le titre de l'inoculum et les effets observés apparaît principalement au niveau des relevés thermiques (les 10 jours suivant l'inoculation) et des dates d'avortement.

-Un titre de 10^7 Chlamydia psittaci, souche AC 1, par ml d'inoculum, utilisé par voie intra-dermique, permet d'obtenir une chlamydiose abortive caprine reproductible.

*Amélioration des conditions de diagnostic et de pronostic.

-du point de vue clinique, les résultats attestent du peu de sympômes et lésions pathognomoniques, les prodromes sont également rares (2 cas sur 11); les complications, elles, ne sont pas négligeables (5 sur 11) avec une mort à déplorer.

-du point de vue expérimental, la cinétique des anticorps sériques, fixant le complément, s'est avérée indépendante de la date d'avortement; mais cela peut-il être extrapolé aux conditions d'infection "sur le terrain" ? La culture sur cellule se révèle éminemment utile, mais nécessite l'entretien d'une lignée cellulaire, fort sensible aux contaminations externes.

*Existence du contage par l'excrétion vaginale ou fécale.

-de toute évidence très importante au moment de l'avortement, la contamination du milieu ambiant peut exister avant et après cette période abortive, suite à la dissémination de Chlamydia par les pertes vaginales

- les fécès se sont révélés non virulents, mais le doute peut subsister.

*Pathogénie comparée de l'avortement chlamydien.

-la septicémie foetale est généralisée; des lésions macroscopiques sont observées dans 1 cas sur 2 mais la plupart (oedème, épanchement sanguin) peuvent être non pas la cause mais la conséquence de la mort foetale.

-la placentite semble plus préjudiciable aux foetus car 6 des 8 placentas observés présentent des lésions macroscopiques, disséminées ou locales, très marquées.

-les composantes hormonale et immunologique ne sont pas discernables dans cette expérimentation.

CONCLUSION

Les avortements caprins ont, ces dernières années, fortement augmenté du fait de l'accroissement du cheptel mais aussi d'une intensification poussée de la production qui a affaibli la résistance de la chèvre; cet animal rustique était pourtant peu enclin à avorter, aidé en cela par une secrétion progestéronique lutéale régulière et un fort pouvoir d'immunisation.

De "nouveaux" germes abortifs peu immunogéniques, comme les Chlamydia, ont alors pu exprimer leur pouvoir pathogène, d'autant plus que les Brucella perdaient leur rôle prépondérant, du fait de l'abattage obligatoire des chèvres brucelliques.

La chlamydiose est, elle, moins vigoureusement combattue car heureusement extrêmement moins pathogène pour l'Homme que la brucellose.

Son importance est néanmoins reconnue du point de vue économique, de par les pertes notoires qu'entraînent les avortements, mais aussi du point de vue épidémiologique du fait de l'ubiquité extrême du pouvoir pathogène de Chlamydia psittaci.

Notre expérimentation a contribué à fournir quelques résultats sur la chlamydiose caprine elle-même, mais des recherches plus générales sur l'antigénicité des Chlamydia sont nécessaires afin de cerner leur spécificité et de :

- vérifier la non contagiosité de la chlamydiose des Ruminants pour l'Homme.
- savoir alors pourquoi les souches aviaires de Chlamydia psittaci sont, elles, pathogènes pour l'Homme
- discerner les causes et les effets de la chlamydiose intestinale, qui tient lieu de réservoir pour les Chlamydia

- comprendre la relation entre les chlamydioses ovine, caprine et bovine, cette dernière existant aussi en FRANCE depuis quelques années (71)

- préciser le devenir de la chlamydiose chez les nouveaux nés viables,

tant d'épineux problèmes que notre recherche bibliographique n'a pu qu'en partie aborder.

*

* *

VU : Le Professeur de l'Ecole Vétérinaire
rapporteur

Professeur J. FERNEY

VU : Le Directeur de l'Ecole Vétérinaire

Professeur R. LAUTIE

VU : Le Président de la Thèse

Professeur ARMENGAUD

VU et PERMIS D'IMPRIMER
Toulouse, le 22-3-1984
Le Président de l'Université Paul Sabatier

UNIVERSITÉ PAUL SABATIER TOULOUSE

Professeur D. BANCEL

BIBLIOGRAPHIE

(1) APPLEYARD (W.T.), AITKEN (I.D.), ANDERSON (I.) - Outbreak of chlamydial abortion in goats - Vet. Record, 1983, 113, p.63.

(2) BECCERA (V.M.), ATA (F.A.), STORZ (J.) - Studies on the response of Ewes to live Chlamydia adapted to chicken embryos or tissue culture - Can. J. Comp. Red., 1976, 40, 46 - 52.

(3) BECKER (Y.), ASHER (Y.) - Obligate parasitism of trachome agent : lack for trachoma development in ethidium bromide treated cells - Antimicrob. Agents Chemother., 1972, 1, 171 - 173.

(4) BLANCO (A.) - Abortos en ovinos y caprinos por agentes del grupo psittacosis linforgranulona. "Myagawanella ovis" Revista del Patronato de Biologia Animal, 1967, 11, 35 - 58.

(5) BLONDEAU (H.) - Contribution à l'étude de la chlamydiose caprine en milieu alpin - Bulletin des GTV, 1981, 3 bis, 35 - 37.

(6) BOSC (M.J.) - Etude d'un diagnostic de gestation par ultrasons et effet Doppler, chez la brebis - Ann. Zootech., 1971, 20 (1), 107 - 110.

(7) BOSC (M.J.), DJIANE (J.), NICOLLE (A.), RODOLAKIS (A.) - Evaluation of progesterone, estrogens and placental lactogen in pregnant ewes following experimental infections with an abortive agent Chlamydia psittaci "var ovis" - Theriogenology 1981, 16 (3), 303 - 313.

(8) BROWNRIDGE (E.A.), WRICK (P.B.) - Interaction of Chlamydia psittaci reticulate bodies with mouse peritoneal macrophages - Infect and Immun., 1979, 24, 697 - 700.

(9) BUZONI (D.) - La chlamydiose intestinale - Rapport bibliographique. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de RENNES, 1979.

(10) BUZONI (D.) - Est-il possible d'ignorer les Chlamydia intestinales pour mener une prophylaxie de la chlamydiose abortive Mémoire de fin d'études agronomique. ENSA RENNES 1980.

(11) BYRNE (G.I.) - Requirements for ingestion of Chlamydia psittaci by mouse fibroblasts (L. cells) Infect. and Immun., 1976, 14 (3), 645 - 651.

(12) BYRNE (G.I.), MOULDER (J.W.) - Parasite - specified phagocytosis of Chlamydia psittaci and Chlamydia trachomatis by L and He La cells. - Infect and Immum. 1978, 19 (2), 598-606.

(13) CHANFORAN (G.) - Contribution à l'étude de la chlamydiose caprine en FRANCE - Thèse Doct. Vét., TOULOUSE, 1981, n° 53.

(14) CHARTON (A.), FAYE (P.), GUESLIN (M.), LE LAYEC (C.) - Chlamydiose des ruminants (bovine, ovine, caprine) : études expérimentales. II : composition polypeptidique des corps élémentaires de souches de diverses origines - Bull. Acad. Vet. de FRANCE, 1976, 49, 401 - 408.

(15) CHO-CHOU KUO, GRAYSTON (J.T.) - Studies on delayed hypersensitivity with Trachoma organisms. III. Lymphokines - J. of Immunol., 1973, 112, 540 - 545. Cité par FAYE et coll. 1975.

(16) CROCKER (T.T.), PELC (S.R.), NIELSON (B.I.), EASTWOOD (J.M. BANKS (J.) - Population dynamics and deoxyribonucleic acid synthesis in Hela cells infected with ornithosis agent - J. Infect. Dis., 1965, 115, 105 - 122. Cité par HATCH. 1976.

(17) DAVIS (B.D.), DULBECCO (R.), EISEN (H.N.), GINSBERG (H.S.), WOOD (W.B.) revised by NICHOLS (R.L.) and BLYTH (W.A.) Chlamydiae - In Microbiology, 1973, 2° Edition, Harper International Edition, Singapore, 916 - 927.

(18) DOUGHRI (A.M.), ALTERA (K.P.), STORZ (J.), EUGSTER (A.K.) Electron microscopic tracing of pathogenetic events in intestinal chlamydial infections of newborn calves - Experimental and Molecular pathology, 1973, 18, 10 - 17.

(19) DUC GOIRAN (P.) - Les Chlamydia. Quelques aspects biologiques et cliniques - Association des Anciens élèves de l'Institut Pasteur, 2° trimestre 1981, 88, 7 - 24.

(20) DUNGWORTH (D.L.). CORDY (D.R.) - The pathogenesis of ovine pneumonia - II - Isolation of virus from faeces : comparison of pneumonia caused by faecal, enzootic abortion and pneumon tis viruses - J. Comp. Path. Therap., 1962, 72, 71 - 79. Cité par STORZ, c. 1971.

(21) DURAND (M.) - Rickettsies et Virus facteurs d'avortement chez les femelles domestiques - Infection et Fécondité, 1977, Rapporteurs généraux : HENRY - SUCHET (J.), STEG (A.), CONSTANTIN (A.), éd. MASSON, 147 - 159.

(22) DURAND (M.), LIMOUZIN (C.), MARTY (P.) - Mise en application de vaccinations contre la fièvre Q dans une clientèle des Deux-Sèvres. - Bulletin des G.T.V., 1981, 3 bis, 69 - 74.

(23) EB (F.), ORFILA (F), LEFEBVRE (J.P.) - Ultrastructural study of development of agent of ewe's abortion - J. Ultrastruct.Res 1976, 56, 177 - 185. Cité par CHANFORAN - 1981

(24) EB (F.), ORFILA (J.) - Etat actuel du diagnostic biologique des chlamydioses - Bull. Inst. Pasteur, 1978, 76, 247 - 281.

(25) EUGSTER (K.A.) - Chlamydial abortions in goats - JAVMA, 1978, 172. p.14.

(26) FAYE (P.), LECOANET (J.), CHARTON (A.), DELAHAYE (J.), LE LAYEC - (C.) Avortement enzootique "à virus" (Rakeia) de la chèvre - Bull. Acad. Vét, 1971, 44, 61 - 64.

(27) FAYE (P.), CHARTON (A), MAGE (C.), BERNARD (C.),, LE LAYEC (C.). - Propriétés hémagglutinantes du "virus" de l'avortement enzootique des petits ruminants (souches de "Rakeia" d'origine ovine et caprine). Note préliminaire. Bull. Acad. Vét.. 1972. 45, 169 - 173.

(28) FAYE (P.), CHARTON (A.), Mc KERCKER (D.G.), LE LAYEC (CL.) SOLSONA (M.), GUESLIN (M.) - Etude "in vitro" de l'hypersensibilité retardée provoquée, chez le cobaye, par l'inoculation intradermique, d'un antigène chlamydien (virus de l'avortement de la brebis) purifié concentré - Bull. Acad. Vét., 1975, 48, 107 - 111.

(29) FILLET (R.) - Quelques observations relatives à la chlamydiose caprine - Bulletin des GTV, 1981, 3 bis, 31 - 33.

(30) FOOGIE (A.) - Preparation of vaccines against enzootic abortion of ewes. A review of the research work at the Moredum Institute - Vét. Bull., 1973, 43, 587 - 590.

(31) FRIIS.(R.R.) - Interaction of L cells and Chlamydia psittaci: entry of the parasite and host responses to its development J. of Bacteriol., 1972, 110 (2), 706 - 721.

(32) FUENSALIDA-DRAPER (E.), RODOLAKIS (A.) - Kinetics of the complement fixing and immuno-fluorescent antibody response in experimental chlamydiosis in ewes - Ann. Rech. Vét., 1978, 9 (3), 505 - 516.

(33) GENEST (P.). Transmission congénitale de la psittacose expérimentale chez la souris blanche. Note Préliminaire. Bull. Acad. Vét. 1959, 1, 75 - 80.

(34) GENTILHOMME (C.) - La chlamydiose abortive et son diagnostic D.E.A. Sciences Agronomiques. Université des Sciences et Techniques du LANGUEDOC, MONTPELLIER, 1981.

(35) GIAUFFRET (A). RUSSO (P.) - Enquête sérologique sur la chlamydiose des petits ruminants. Etude de la réaction de fixation du complément - Rec. Med. Vét., 1976, 162 (9), 535 - 541.

(36) GIROUD (P.), JADIN (J.). Importance des microagglutinations pour le diagnostic sérologique des infections provoquées par éléments virulents à la limite des rickettsies. C.R. Soc. Biol. 1954., 148, 1157 - 1158.

(37) GIROUD (P.), ROGER (F.), VALLEE (A.), ROGER (A.) - Le virus de l'avortement de la brebis. Premiers isolements en FRANCE Bull. Acad. Vét., 1956, 109, 392 - 398.

(38) GREGORY (W.W.), BYRNE (G.I.), GARDNER (M.) MOULDER (J.W.) Cytochalasin B does not inhibit ingestion of Chlamydia psittaci by mouse fibroblasts (L cells) and mouse peritoneal macrophages - Infect. and Immunit., 1979, 25 (1), 463 - 466.

(39) HARRISSON (M.J.) - Enhancing effect of DEAE dextran on inclusion counts of an ovine Chlamydia (bedsonia) in cell culture Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci., 1970, 48, 207 - 213.

(40) HATCH (T.P.) - Utilization of L. cells nucleoside triphosphates by Chlamydia psittaci for ribonucleic acid synthesis - J. Bacteriol., 1975, 122 (2), 393 - 400.

(41) HATCH (T.P.). Competition between Chlamydia psittaci and L. cells for host isoleucine pools : a limiting factor in chlamydial multiplication - Infec. and Immun., 1975, 12 (1), 211-220.

(42) HATCH (T.P.) - Utilization of exogenous thymidine by Chlamydia psittaci growing in thymidine - kinase - containing and Thymidine - kinase deficient L cells - J. of Bacteriol., 1976, 125, 706 - 712.

(43) JAIN (S.K.), RAJYA (B.S.) - Pathology of chlamydial abortions in ovine and caprine - Curr. Sci., 1975, 44 (6), 209 - 210.

(44) KAHAN (A.), ORFILA (J.), AMOR (B.), THOMAS (D.) - Recherche sur la séroimmunologie des Chlamydia dans le syndrôme de F.L.R. - Journées franco-allemandes de Rhumatologie, Symposium de STRASBOURG. Octobre 1977. Cité par DUC-GOIRAN. 1981.

(45) KAUKER (E.), MINNERS (P.). Virus abort des sckafesund Versuche zur Bekampfung mittels einer Formol-Vakzine - BERLIN MUNCHEN Tier aerztl. Wschr., 1956, 69, 265 - 267. Cité par STORZ (J.), g. 1971.

(46) KOKE (J.), LACROIX (M.) - Observations sur les néorickettsioses ovines et caprines dans le TARN et GARONNE - Bull. Soc. Vét. Prat. FRANCE, 1973, 57 (5), 215 - 220.

(47) KOLB (E.) Physiologie des animaux domestiques 3° Ed. PARIS VIGOT frères. 1975 - 974 p.

(48) LEFEVRE (P.C.), BAKATENA (K.), BERTAUDIERE (L.) - Note sur un foyer de chlamydiose abortive sur la chèvre au TCHAD Rev. Elev. Med. Vét. Pays trop., 1979, 32 (1), 33 - 35.

(49) LEVY (N.J.) - Wheat germ agglutinin blockage of chlamydial attachment sites : antagonism by N.acétyl D - glucosamine Infect. and Immun., 1979, 35 (3), 946 - 953.

(50) LIN (H.S.) - Stability of the nucleic acids of L cells after infection with the meningo-pneumonitis agent - J. Bacteriol., 1968, 96 (6), 2049 - 2053.

(51) LIN (H.S.) - Inhibition of Thymidine Kinase activity and Deoxyribonucleic Acid synthesis in L cells infected with the meningopneumonitis agent - J. Bacteriol., 1968, 96 (6), 2054-2065.

(52) LITWIN (J.), OFFICER (J.E.), BROWN (A.), MOULDER (J.W.) A comparative study of the growth cycles of different members of the psittacosis group in different host cells - J. Infect. Dis., 1961, 109, 251 - 279. Cité par STORZ et coll. 1968.

(53) Mc CAULEY (E.H.), TIEKEN (E.L.) - Psittacosis Lymphogranuloma Venereum agent isolated during an abortion epizootic in goats - JAVMA, 1968, 152 (12), 1758 - 1765.

(54) Mc EWEN (A.D.), LITTLEJOHN (A.J.), FOGGIE (A) - Enzootic abortion in ewes. Some aspects of infection and resistance. - Vet. rec., 1951, 63, 489 - 492. Cité par RODOLAKIS. 1977.

(55) MALOT (N.), BRU (C.), TURQUAND (O.) - Statistiques départementales d'avortements infectieux non brucelliques caprins - Bulletin. des G.T.V., 1981, 3 bis, 45 - 51.

(56) MITSCHERLICH (E.) - Beiträge zum virus abort des Schafes. I. Mitteilung : Die Atiologie des Virus aborts des Schafes. Vet. Med. Nachrichten., 1955, 1, 1-15. Cité par RODOLAKIS. 1977.

(57) MOULDER (J.W.) - A model for studying the biology of parasitism : Chlamydia psittaci and mouse fibroblasts (L cells) - Bio. Science., 1969, 19, 875 - 881.

(58) MOULDER (J.W.), HATCH (T.P.), BYRNE (G.I.), KELLOG (K.R.) Immediate toxicity of high multiplicities of Chlamydia psittaci formouse fibroblasts (L cells) - Infect. and Immum., 1976, 14, 277 - 289.

(59) OMORI (T.), ISHII (S.), HARADA (K), ICHIKAWA (O.), MURASE (N.), KATADA (M.), ARAUMI (W.) - Study on an infectious pneumonia of goat caused by a virus. I. Isolation of the causative agent and characteristics - Exp. Sep. of Gov't. Exp. Sta. for Anim. Hyg. TOKYO, 1953, 27, 101 - 119. Cité par OMORI et coll. 1957.

(60) OMORI (T.), MORIMOTO (T.), MARADA (K.), INABA (Y.), ISHII (S.), MATUMOTO (M.) - Miyagawanella : Psittacosis - Lymphogranuloma group of viruses. I. Excretion of goat pneumonia virus in feces - JAPAN J. Exp. Med., 1957, 27, 131 - 143.

(61) PAGE (L.A.), MATTNESS (P.J.), SMITH (P.C.) - Natural intestinal infection with Chlamydia psittaci in a closed bovine herd: serologic changes, incidences of shedding, antibiotic treatment of the herd and biological caracteristics of the Chlamydiae. Amer. J. Vet. Res., 1973, 34, 611 - 614. Cité par GENTILHOMME. 1981.

(62) PARKER (H.D.), YOUNGER (R.L.) - Distribution of ovine abortion virus in experimentally infected ewes and fetuses - Amer. J. Vet. Res., 1962, 23, 981 - Cité par STORZ et coll. 1968.

(63) PARKER (H.D.), HAWKINS (W.W.), BRENNER (E.) - Epizootiologic studies of ovine virus abortion. Amer. J. Vet. Res. 66, 27, 869 - 877. Cité par RODOLAKIS. 1977.

(64) PELLERIN (J.L.) - Cours magistral de Microbiologie - Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE - 1979.

(65) PIERCE (K.R.), CARROLL (L.H.) MOORE (R.W.) Experimental transmission of ornithosis from sheep to turkeys. Amer. J Vet. Res., 1964, 25, 977 - 980. Cité par STORZ (J.) d. 1971.

(66) POPOVICI (V.), FLORICA HIASTRU - Infection expérimentale aux microorganismes du groupe Bedsonia(P.L.V.) chez les veaux - Archivia Véterinaria, 1967, 3 (BUCAREST).

(67) RICO (A.G.) - Cours magistral de physique et chimie biologiques et médicales. Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE. 1978.

(68) RODOLAKIS (A.) - Infection abortive de la souris inoculée par voie intrapéritonéale avec Chlamydia ovis - Ann. Rech.-Vet., 1976, 7 (2), 195 - 205.

(69) RODOLAKIS (A.) - La souris gestante, modèle de la chlamydiose abortive ovine - Bull. Acad. Vét. de FRANCE, 1976, 49,101 106.

(70) RODOLAKIS (A.) - Chlamydiose ovine et caprine. Journées de la Recherche ovine et caprine - 3. 1977. TOURS. Pathologie des ovins et des caprins. INRA TOURS. 30 Novembre. 1° Décembre 1977. Ed. ITOVIC - SPEOC. p. 107 - 116.

(71) RODOLAKIS (A.) - La chlamydiose bovine existe-t-elle - Bulletin des G.T.V., 1980, 2, 49 - 53.

(72) RODOLAKIS (A.) - Connaissances actuelles sur la virulence des Chlamydia - Réunion des Microbiologistes de l'INRA. 4. 1980. ANGERS. **Facteurs de virulence** - Antibiotiques en agriculture. INRA ANGERS. 9-11 Avril 1980. p. 23-30.

(73) RODOLAKIS (A.) - Communications personnelles.

(74) RODOLAKIS (A.) - Chlamydiose caprine - Bulletin des G.T.V., 1981, 3 bis, 53 - 55.

(75) RODOLAKIS (A.), BERNARD (K) - Isolement de Chlamydia des organes génitaux de béliers atteints d'épididymite - Bull. Acad. Vét. de FRANCE, 1977, 50, 65 - 70.

(76) RODOLAKIS (A.), CHANCERELLE (L) - Dénombrement direct à l'isolement de Chlamydia psittaci au moyen de la technique des plages de lyse. Ann. Microbiol. (Institut Pasteur), 1977, 128 B, 81 - 85.

(77) RODOLAKIS (A.), DUFRENOY (J.), SOURIAU (.) - Diagnostic allergique de la chlamydiose abortive de la chèvre - Ann. Rech. Vet., 1977, 8 (3), 213 - 219.

(78) RODOLAKIS (A.), SOURIAU (A.) - Clinical evaluation of a commercial vaccine against chlamydial abortion of ewes - Ann. Rech. Vet., 1979, 10 (1), 41 - 48.

(79) RODOLAKIS (A.), SOURIAU (A.) - Clinical evaluation of immunity following experimental or natural infection of ewes with Chlamydia psittaci (var ovis) - Ann. Rech. Vét., 1980, 11 (2), 215 - 223.

(80) RODOLAKIS (A.), SOURIAU (A.), RAYNAUD (J.P.), BRUNAULT (G) - Efficacy of a long-acting oxytetracycline against chlamydial ovine abortion - Ann. Rech. Vet., 1980, 11 (4), 437 - 444.

(81) RODOLAKIS (A.), SOURIAU (A.) - Response of ewes to temperature - sensitive mutants of Chlamydia psittaci (var ovis) obtained by N.T.G. mutagenesis - Ann. Rech. Vét., 1983, 14 (2), 155 - 161.

(82) ROGUINSKY (M.) - Epidémiologie des maladies abortives. Bulletin des G.T.V., 1980, 2, 77 - 87.

(83) ROYAL (L.) - Cours magistral de Pathologie de la Reproduction Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE. 1980.

(84) RUSSO (P.) - Etude d'un agent de l'ordre des Chlamydiales : Chlamydia psittaci. Recherches sur le microorganisme de l'avortement enzootique des petits ruminants. Thèse de doctorat de spécialité. 1975. Université de NICE.

(85) RUSSO (P.) - Essai de caractérisation des souches de Chlamydia d'origine bovine - Bulletin des G.T.V., 1980, 3, 27 - 30.

(86) RUSSO (P.), GIAUFFRET (A.) - Intérêt du test de transformation lymphoblastique pour le contrôle des vaccins chlamydiens. Rev. Med. Vet., 1978, 129 (6), 879 - 886.

(87) SEMERDZHIEV (B) et coll. - Un cas d'avortement viral chez la chèvre (en Bulgare)- Vet. Med. Nauki. Bulg., 1966, 3 (2) 115 - 121.

(88) STAUB (H.) - Virus abort in einem Ziegenbestande - Deutsch Tieraerztl. Wsch., 1959, 66, 98 - 99 .

(89) STEPHENS (L.C.), Mc CHESNEY (A.E.), NOCKELS (C.F.) - Improved recovery of Vitamin E - treated lambs that have been experimentally infected with intratracheal Chlamydia. - Br. Vet. J., 1979, 135, 291 - 293.

(90) STORZ (J.) - Superinfection of pregnant ewes latently infected with a psittacosis lymphogranuloma agent - Cornell Vet., 1963, 53, 469 - 480. Cité par GENTILHOMME. 1981.

(91) STORZ (J.) - Psittacosis lymphogranuloma infection of sheep. Antigenic structures and interrelations of PL agents associated with polyarthritis enzootic abortion, intrauterine and latent intestinal infections - J. Comp. Path. Therap., 1966, 76, 351-362.

STORZ (J.) - Chlamydia and Chlamydia - induced diseases Springfield : Thomas C.C., 1971 , 358 p. :

(92) STORZ (J.), a - Morphologic characteristics - In STORZ, 1971, 14 - 18.

(93) STORZ (J.), b - Toxin neutralization and mouse toxicity-prevention test - In STORZ, 1971, 96 - 97.

(94) STORZ (J.), c - Key to the isolation and identification of Chlamydial agents and their differential properties - In STORZ, 1971, 106 - 119.

(95) STORZ (J.), d - Naturally occuring chlamydial infections - In STORZ, 1971, 119 - 126.

(96) STORZ (J.), e - Host specificity and interrelation of chlamydial infections in different animal species - In STORZ, 1971, 128 131.

(97) STORZ (J.), f - Intestinal chlamydial infections of Ruminants - In STORZ, 1971, 146 - 154.

(98) STORZ (J.), g - Epizootiologic aspects of chlamydial abortions In STORZ, 1971, 201 - 202.

(99) STORZ (J.), h - Specific antigenic relationship of chlamydial agents associated with abortion in sheep ans cattle - In STORZ, 1971, 206 - 207.

(100) STORZ (J.), i - Artificial stimulation of immunity and chlamydial vaccines - In STORZ, 1971, 265 - 278.

(101) STORZ (J.), MARRIOTT (M.E.), THORNLEY (W.R.) - The dynamics of the blood infections phase in psittacosis-induced abortions in animals - J. Infect. Dis., 1968, 118, 333 - 339.

(102) STORZ (J.), COLLIER (J.R.), EUGSTER (A.K.), ALTERA (K.P.) Intestinal bacterial changes in Chlamydia induced primary enteritis of new born calves - Annals New York Academy of Sciences, 1970, 176, 162 - 175.

(103) STORZ (J.), CARROLL (E.J.), STEPHENSON (E.M.), BALL (L.), EUGSTER (A.K.) - Urogenital infection and seminal excretion after inoculation of bulls and rams with Chlamydia - Amer. J. Vet. Res., 1976, 37, 517 - 520. Cité par RODOLAKIS (A.), BERNARD (K.), 1977.

(104) STUDDERT (M.J.) - Bedsonia abortion in sheep. II. Pathology and pathogenesis with observations on the normal ovine placenta - Res. Vet. Sci., 1968, 9, 57 - 64.

(105) TAMURA (A.), MANIRE (G.P.) - Effect of Penicillin on the multiplication of meningo-pneumonitis organismes (Chlamydia psittaci) - J. Bacteriol., 1968, 96 (4), 875 - 880.

(106) THORBURN (G.D.) - Hormonal control of parturition in the sheep and goat - Seminars in Perinatalogy, 1978, 2 (3), 235 - 245.

(107) TODD (W.J.), STORZ (J.) - Ultrastructural cyto chemical evidence for the activation of lysosomes in the cytocidal effect of Chlamydia psittaci - Infect. and Immun., 1975, 12, 638 - 646.

(108) VENDER (J.), MOULDER (J.W.) - Initial step in catabolism of glucose by the meningo-pneumonitis agent - J. Bacteriol., 1967, 94 (4), 867 - 869.

(109) WALDHALM (D.G.), FRANCK (F.W.), MEINERSHAGEN (W.A.), PHILIP (R.N.), THOMAS (L.A.) - Lambing performance of ewes inoculated with Chlamydia sp. before and after breeding - Amer. J. Vet. Res., 1971, 32, 809 - 811. Cité par RODOLAKIS. 1977.

(110) WYRICK (P.B.), BROWNRIDGE (E.A.) - Growth of Chlamydia psittaci in macrophages - Infect. and immun., 1978, 19 (3), 1054 - 1060.

(111) WYRICK (P.B.), BROWNRIDGE (E.A.), IVINS (B.E.) - Interaction of Chlamydia psittaci with mouse peritoneal macrophages - Infect. ans Immun., 1978, 19 (3), 1061 - 1067.

(112) YALCIN (N.), GANE (P.) - Les avortements salmonellique et néorickettsien des chèvres - Rec. Med. Vet., 1970, 146, 705-708.

* * * * * *